FACULTE DE MEDECINE
LARIBOISIERE SAINT-LOUIS
UNIVERSITE DE PARIS VII

ANNEE 1975

THESE

N° No 72

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

MILGRAM Marc-Gilbert

Né le 17 Juin 1948 à PARIS III

Présentée et soutenue publiquement le

IgE : METHODE DE DOSAGE NON RADIO-IMMUNOLOGIQUE

PRESIDENT : M. L. C. BRUMPT, Professeur

FACULTE DE MEDECINE
LARIBOISIERE SAINT-LOUIS
UNIVERSITE DE PARIS VII

ANNEE 1975

THESE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

MILGRAM Marc-Gilbert

Né le 17 Juin 1948 à PARIS III

Présentée et soutenue publiquement le

IgE : METHODE DE DOSAGE NON RADIO-IMMUNOLOGIQUE

PRESIDENT : M. L. C. BRUMPT, Professeur

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTE DE MEDECINE PARIS-LARIBOISIERE-SAINT-LOUIS

CORPS PROFESSORAL

Année 1974 - 1975

DOYENS HONORAIRES : Professeur J. BERNARD, Professeur J.J. BERNIER

PROFESSEURS HONORAIRES : M. AUBRY, C. LAUNAY, R. WORMS.

Doyen : Professeur Et. FOURNIER

PROFESSEURS

Dermatologie

G. DEGOS	Prof. de clinique des maladies cutanées et syphilitiques
F. DUPERRAT	Prof. de Dermatologie
J. CIVATTE	Prof. Agrégé
A. PUISSANT	Prof. Agrégé
S. BELAICH	Prof. Agrégé

Rhumatologie

S. DE SEZE	Prof. de clinique Rhumatologique
A. RYCKEWAERT	Prof. Agrégé
M. KAHN	Prof. Agrégé
A. DRYLL	Prof. Agrégé

Gastro-Entérologie

J.J. BERNIER	Prof. de clinique gastro-entérologique
J.P. FERRIER	Prof. Agrégé
J.C. RAMBAUD	Prof. Agrégé

Endocrinologie

J. CANIVET	Professeur
G. CATHELINEAU	Prof. Agrégé

Médecine

D. KUNTZ	Prof. Agrégé
J. ROUFFY	Prof. Agrégé

Chirurgie

J. PERROTIN	Prof. de Pathologie chirurgicale
P. HAUTEFEUILLE	Prof. Agrégé

Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique

P. BANZET	Prof. Agrégé
J. WITWCET	Prof. Agrégé

Neuro-Chirurgie

R. HOUDART	Professeur
J. COPHIGNON	Prof. Agrégé

Hématologie

J. BERNARD	Prof. de clinique des maladies du sang
J. DAUSSET	Prof. d'Immunologie Hématologie
M. BOIRON	Professeur
M. SELIGMANN	Professeur
Y. NAJEAN	Prof. sans Chaire
J. CAEN	Prof. Agrégé
J. COLOMBANI	Prof. Agrégé
C. JACQUILLAT	Prof. Agrégé
G. SCHAISON	Prof. Agrégé

Cardiologie

Y. BOUVRAIN	Prof. de clinique cardiologique
J.J. WELTI	Prof. sans chaire
H. SLAMA-CHALOUM	Prof. Agrégé
R. GOURGON	Prof. Agrégé
G. MOTTE	Prof. Agrégé

Thérapeutique

M. LAMOTTE	Prof. de clinique thérapeutique
J.M. SEGRESTAA	Prof. Agrégé

Toxicologie

M. GAULTIER	Prof. de clinique toxicologique
P. GERVAIS	Prof. Agrégé

Médecine Légale

E. FOURNIER	Prof. de Médecine Légale et Toxicol.
M.L. EFTHYMIOU	Prof. Agrégé

Pathologie Expérimentale

F.P. MERKLEN	Prof. de Pathologie Expérimentale
F. COTTENOT	Prof. sans Chaire

Parasitologie

M. LARIVIERE	Professeur

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548126_0028

Neurologie
B. PEPIN Prof. sans Chaire

Psychiatrie adulte
A. GORCEIX Prof. Agrégé

Psychiatrie infantile
M. DUGAS Prof. Agrégé

Pédiatrie
H. LESTRADET Prof. sans Chaire
B. LABRUNE Prof. Agrégé

Gynécologie-Obstétrique
P. MORIN Professeur
P. ENGELMANN Prof. Agrégé

Urologie
C. CHATELAIN Prof. Agrégé

Oto-Rhino-Laryngologie
P. MIALOUX Prof. de clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie
G. FREYSS Prof. Agrégé

Pneumo-Phtisiologie
L. ISRAEL Prof. Agrégé

Ophtalmologie
M. FONTAINE Prof. Agrégé

Histologie
J. LAVEDAN Prof. sans Chaire
M. MAILLET Prof. Agrégé
C. BOUTON Chargé de cours

Anatomie pathologique
J. ROUJEAU Professeur
N. CHELLOUL Prof. Agrégé

Bactériologie
Y. PEROL Prof. Agrégé

Anesthésiologie
J.F. MONTAGNE Prof. Agrégé
E. ECHTER Prof. Agrégé

Radiologie
M. LAVAL-JEANTET Prof. Agrégé
M.C. PLAINFOSSE Prof. Agrégé
R. DJINDJIAN Prof. Agrégé

Pharmacologie
P. LECHAT Professeur

Biophysique
A. DJOURNO Prof. de Physique Médicale
M. BURGEAT Prof. Agrégé
M. DUVELLEROY Prof. Agrégé

Physiologie
A. TEILLAC Prof. sans Chaire
J.P. MARTINEAUD Prof. sans Chaire
H. MAMO Prof. Agrégé

Anatomie
J.P. LASSAU Prof. Agrégé

Biochimie
R. BOURRILLON Professeur
P. TIOLLAIS Prof. Agrégé
Y. GOUSSAULT Chargé de cours

Psychologie
L. MOOR Chargé de cours

MEDECINS, CHIRURGIENS ET SPECIALISTES DES HOPITAUX

M.M. BARCAT Jean - BENNET Jean - CALVET Jean - CHARLEUX Henri - COUINAUD Claude - DESPREZ-CURELY Jean-Paul - DUBOST Claude - FRIEZ Pierre - DE GRACIANSKY Pierre - GRENET Pierre - HELIE Jules - HERRAULT André - LABAYLE Jean-André - LANCE Marcel - LAROCHE Jean-François - MARIE René - MAY Jean-Pierre - PESTEL Maurice - RICHARD Claude - SARAUX Henri - VIGNAUD DUPUY DE ST-FLORENT Georges.

DIRECTEURS D'ENSEIGNEMENT CLINIQUE

M.M. ACCARD Jean-Loup - ALBERTINI Frédéric - BARDIAUX Maurice - BENAD BERTRAND Y - BITOUN Georges - CALLEROT Louis - Mme CHAIGNEAU Hélène
M.M. CHALANSET René - CHAOUAT Yves - DELANOE Yves - DELTEIL Pierre - DESFOSSE Louis - DURAND Claude - ELBAZ Pierre - ELIACHAR Edouard - FERREZ Bernard - GANEM Jean
Mme GIACOMINI Thérèse - M.M. GOUDAL Henri - GRUPPER Charles - HUGUET Jean-Claude -
M.M. KALMANSON Daniel - LEFEVRE Lucien - LOGEAY René - LIBESKIND Marcel - MARTIN-DUPRAY Daniel - MARTINETTI
Mme MAY Vera - M.M. MAZZA Roger - MIKOL François - NEHLIL Jacques - PARIENTE Philippe -
M.M. PARIENTE Maurice - PASQUIER Pierre - PIRET Jean-Marie - PLANE Jean-Louis - POUJOL Jean - RACINE Yves - RENE Louis - Mme RENIE Odile - M.M. TINTHOIN Jean-
M.M. VANTELON Jacques - de VEREIZIER J. - VERGNON - VERMEULEN Roger - VEYRAT Jean-Gérard
Mma VIGNAUD Jacqueline - M. VIGUIE Roger -
MMe XIMENEZ Geneviève.

A Monsieur le Professeur L. C. BRUMPT
qui m'a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse

A Monsieur le Docteur J. PETITHORY

qui m'a confié ce travail et guidé dans sa réalisation
m'accordant toujours un accueil attentif.
Qu'il trouve ici l'assurance
de ma respectueuse reconnaissance.

A mes Maîtres

M. le Docteur J. P. CALVET

M. le Professeur M. LAMOTTE

M. le Professeur J. BERNARD

M. le Professeur B. DUPERRAT

M. le Professeur P. PIALOUX

M. le Docteur J. PETITHORY

Je remercie,

Madame Monique ROUSSEAU et les laborantines du département de sérologie du laboratoire du Centre Hospitalier de Gonesse pour l'aide qu'elles m'ont apportée.

Madame Jeannine LYON qui s'est chargée de la dactylographie de ce travail.

A Annie, mon épouse

A mes parents
qui m'ont toujours accordé
les conditions les plus favorables
pour étudier.
Qu'ils trouvent ici l'expression
de ma profonde reconnaissance

A mes beaux-parents

A ma soeur, à mes beaux frères

A mes grands parents

A mes compagnons d'étude

A mes amis

Immunoglobuline E :

DOSAGE NON RADIOIMMUNOLOGIQUE

S O M M A I R E

INTRODUCTION GENERALE ..... p 1

CHAPITRE I : DOSAGES DE L'IMMUNOGLOBULINE E (IgE) ..... p 2

CHAPITRE II : TECHNIQUE DE DOSAGE DE L'IgE
UTILISEE DANS NOTRE LABORATOIRE ..... p 13

CHAPITRE III : ETUDE DE NOS CAS ..... p 23
RESULTATS OBTENUS DANS
L'ASTHME clinique, L'ALLERGIE CUTANEE,
L'ASTHME associé

CONCLUSION ..... p 34

BIBLIOGRAPHIE ..... p 37

INTRODUCTION GENERALE

Depuis sa découverte en 1967, l'immunoglobuline E sérique a été dosée par de nombreuses techniques. Cependant, celles-ci, quoique très sensibles sont le plus souvent onéreuses, délicates, et surtout utilisent des radio-éléments dont l'emploi est très limité en France par une législation rigoureuse.

Notre but est donc de présenter une méthode relativement simple, et suffissamment sensible pour pouvoir être utilisée en pathologie.

Dans la première partie, qui traite des techniques de dosage généralement utilisées, on trouvera le principe des méthodes ainsi que leur sensibilité. Certaines méthodes, utilisées dans les laboratoires spécialisés seront comparées entre elles. Deux groupes seront individualisés : les méthodes sélectives et non sélectives par rapport à un allergène. Dans chacun de ces groupes seront réunies les techniques basées sur un principe similaire.

La deuxième partie expose la technique de dosage non sélective des immunoglobulines E sériques que nous utilisons dans notre laboratoire. On trouvera, détaillées, les différentes étapes aboutissant à la lecture des lames et une comparaison avec les techniques énoncées dans la première partie.

La troisième partie est consacrée à l'étude de nos cas. Ceux-ci ont été classés en trois groupes : l'asthme clinique isolé, les allergies cutanées, et l'asthme clinique associé à une autre manifestation allergique ou à une pathologie autre. Pour chacun de ces groupes on trouvera des tableaux avec nos résultats , ainsi que la comparaison de ces derniers avec ceux généralement observés.

Puis nous tirerons les conclusions concernant l'utilisation possible de notre méthode, ainsi que les résultats que l'on peut en espérer.

CHAPITRE I : DOSAGES DE L'IMMUNOGLOBULINE E (IgE)

I - PRELIMINAIRES.

II - GENERALITES SUR LES DOSAGES.

III - METHODES MESURANT LA VALEUR GLOBALE DE L'IgE

A - METHODES RADIOIMMUNOLOGIQUES :

1/ DERIVEES DE LA TECHNIQUE DE BERSON ET YALOW

2/ METHODE DE ROWE

B - METHODES NON RADIOIMMUNOLOGIQUES

1/ METHODE DE HOFFMAN

2/ METHODE DE CENTIFANTO ET KAUFMAN

IV - METHODES EVALUANT LE TAUX DE L'IgE VIS-A-VIS D'UN ALLERGENE DONNE

A - LES TESTS RADIOIMMUNOLOGIQUES

1/ LE R.A.S.T.

2/ LES TESTS DE ISHIZAKA (K.) et (T;)

B - LE R.C.L.A.A.R.

C - LES TESTS DE TRANSFERT PASSIF IN VIVO DE L'IgE

1/ LE TEST DE PRAUSNITZ-KUTSNER

2/ L'ANAPHYLAXIE CUTANEE PASSIVE CHEZ LE SINGE

D - LE R.M.C.D.

E - LE TEST DES ROSETTES

F - LE T.D.B.H.

V - CONCLUSION PARTIELLE (I)

I - PRELIMINAIRES :

Ce chapitre présente les différentes méthodes de dosage de l'IgE, globales ou non, dégageant les principes de base utilisés dans ces méthodes. Il tentera aussi de préciser la sensibilité de celles-ci. Enfin, il sera question des problèmes posés au cours d'une éventuelle étude du taux de l'IgE lors d'épreuves effectuées dans les laboratoires spécialisés.

II - GENERALITES SUR LES DOSAGES :

L'IgE étant présente dans le sérum des individus à des taux généralement faibles (la concentration est généralement exprimée en nanogramme* par millilitre : ng/ml), on ne peut généralement pas la doser par les méthodes utilisées pour les autres immunoglobulines, telle la méthode d'immunodiffusion radiale simple de Mancini et collaborateurs (60).

Il existe actuellement plusieurs méthodes de dosage sérique de l'IgE qui peuvent être classées en deux grands groupes (77) :

- les méthodes mesurant la valeur globale des IgE sériques, mais ne donnant pas d'indications concernant la sensibilisation à un allergène donné.
- les méthodes permettant d'évaluer le taux d'IgE vis-à-vis d'un allergène déterminé

Les taux d'IgE sériques déterminés par ces différentes méthodes peuvent être exprimés soit en nanogramme par millilitre (ng/ml) soit en Unités Internationales par millilitre (UI/ml). Le standart 68/341 de l'OMS pour l'IgE a été étalonné à 2,42 ng par unité relative au myélome à IgE (5).

Devant la multitude d'unités qui existent en biologie, il semblerait plus simple de ramener les taux d'IgE à d'autres unités. En effet, jusqu'à présent, le taux des immunoglobulines est exprimé en milligramme par millilitre. Pourquoi pas pour l'IgE ?

Les raisons qui ont probablement amené l'OMS à instaurer une unité internationale furent surtout de diminuer la confusion possible entre des mêmes chiffres exprimés en unités différentes. Cependant les résultats exprimés en unités internationales ne prendront leur véritable signification que lorsque les limites des taux normaux seront codifiés (les résultats variant actuellement suivant les auteurs, ceci surtout pour la limite supérieure du taux normal).

* 1 nanogramme = 10^{-9} gramme.

./...

III - LES METHODES MESURANT LA VALEUR GLOBALE DE L'IgE :

Elles peuvent être divisées en deux groupes :

- le plus important, qui comprend les méthodes radioimmunologiques,
- et les méthodes n'utilisant pas la radioimmunologie.

A - LES METHODES RADIOIMMUNOLOGIQUES :

Elles regroupent les méthodes dérivées de la technique de dosage de l'insuline proposée par Berson et Yalow, et la méthode de Rowe.

1/ Méthodes radioimmunologiques dérivées de la technique de Berson et Yalow :

C'est le principal type de méthode utilisé pour le dosage sérique de l'IgE. Elle fut introduite en 1960 par Berson et Yalow pour le dosage de l'insuline (91). Le principe de cette réaction repose sur la compétition entre l'antigène marqué et l'antigène non marqué, libre, se fixant plus facilement, pour les anticorps spécifiques. Comme l'antigène marqué et les anticorps sont en quantité constantes, lorsque la quantité d'antigène libre augmente, elle entraîne une diminution de la fixation des antigènes marqués, et ainsi une baisse de la radioactivité du précipité (FIGURE A).

Le dosage est effectué de la façon suivante : on trace tout d'abord une courbe d'étalonnage qui montre la baisse du pourcentage d'antigène marqué fixé, lorsque l'on ajoute des quantités croissantes d'antigène non marqué standart (en quantité connue). Puis on recherche le pourcentage fixé avec le sérum testé. Cette valeur est alors reportée sur la courbe d'étalonnage, ce qui permet de déterminer la quantité d'antigène présente dans l'échantillon étudié (91-30).

En 1968, lors d'une publication sur les IgE dont ils furent les pères, Ishizaka (K) et (T), Johansson, Bennich et Wide proposèrent une méthode de dosage de l'IgE sérique : c'est le R.I.S.T. (Radio immunosorbant Test) (47), qui est une application aux IgE du R.I.S.A (Radio immunosorbant assay) de Wide et Porath (88-86). Cette méthode utilise la fixation des anticorps spécifiques anti IgE, dirigés contre le fragment Fc de la molécule, à des billes de Sephadex (dextrane insoluble), ce dernier se comportant en immunosorbant (SCHEMA B).

La concentration d'IgE est évaluée en mesurant ensuite la capacité du sérum étudié à inhiber la fixation d'IgE marquée à l'I_{125} aux anticorps

./...

Schéma A : Principe de la méthode de Yalow et Berson.

1/ Réaction :

Ac = anticorps spécifique

ag* = antigène marqué

ag = antigène libre

$$Ac + ag^* \rightleftharpoons Ac\text{-}ag^*$$

$$+ \; ag \rightleftharpoons Ac\text{-}ag$$

2) Dosage

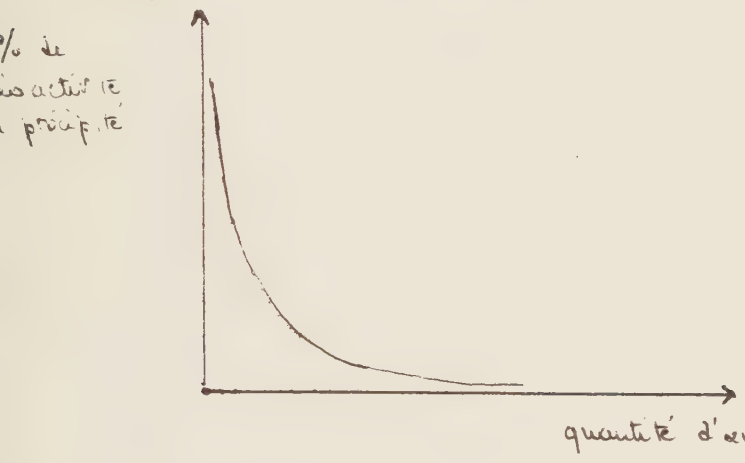
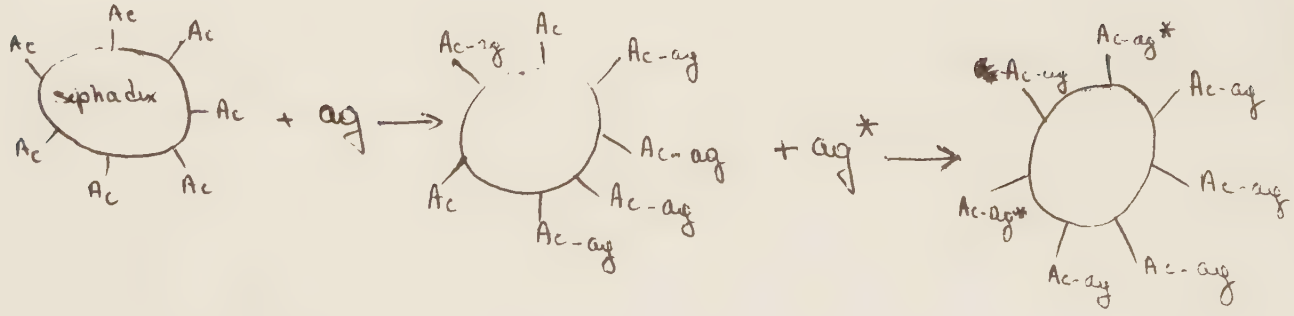


Schéma B : Principe du R.I.S.A.



spécifiques. Les résultats sont alors confrontés avec ceux obtenus dans les mêmes conditions avec un sérum étalon IgE. La sensibilité de cette méthode est de 0,005 - 0,01µg.

Diverses méthodes utilisent le même principe avec un immunosorbant différent :

- disques de papier pour Ceska et Lundkvist, de sensibilité à 1,4 UI/ml, selon les auteurs (1-21-82-84)
- le bromacetyl-cellulose (B.A.C.) (19-61)
- le carbonate de cellulose (85)
- autres dérivés de la cellulose (69)

Une autre méthode, introduite en 1962 par Morgan et Lazarow pour le dosage de l'insuline (63-64-65) mérite un développement particulier. Elle fut ensuite utilisée par Gleich et collaborateurs pour le dosage de l'IgE, sous le nom de "Double Antibody Radioimmunoassay" (29). Méthode d'immunoprécipitation, elle consiste dans un premier temps à mettre en présence un anti sérum IgE de rat avec le sérum testé (ou l'IgE étalon), auxquels on ajoute ensuite de l'IgE marquée à l'I_{125}. Après incubation à 4° pendant 24 heures, on ajoute, dans un deuxième temps des IgG anti rat en excès, associées à un sérum de rat normal de façon à obtenir une équivalence entre les antigènes et les anticorps du deuxième système. Ces IgG anti rat ont pour but de faire précipiter les complexes solubles d'IgE marquée ou non marquée -anti IgE. L'ensemble est incubé une heure à 4°, puis on mesure, après centrifugation, la radioactivité du précipité, et on la compare à celle d'un tube ne contenant que de l'IgE marquée (Schéma C).

Cette méthode, spécifique, est sensible à environ 2 ng/ml.

Lors d'une étude comparative entre trois méthodes (Sephadex, BAC et le "Double antibody radioimmunoassay"), Polmar et collaborateurs ont déduit les résultats suivants (75) : les méthodes par Sephadex ou BAC donnent des résultats concordant avec la méthode de Gleich lorsque les sérums examinés ont des taux d'IgE normaux ou élevés, bien que fréquemment, les taux soient légèrement inférieurs avec cette dernière méthode. Par contre, pour des taux d'IgE très abaissés, les résultats diffèrent notablement, et sont généralement plus élevés avec le Sephadex ou le BAC.

./...

Schéma C : Principe de la méthode de Gleich.

IgE libre + IgE marquée + Anti IgE de rat — 24h à +4°C

↓

Complexes solubles IgE – Anti IgE

IgE marquée – Anti IgE → [IgG anti rat en excès / Sérum de rat normal]

1 h à +4°C

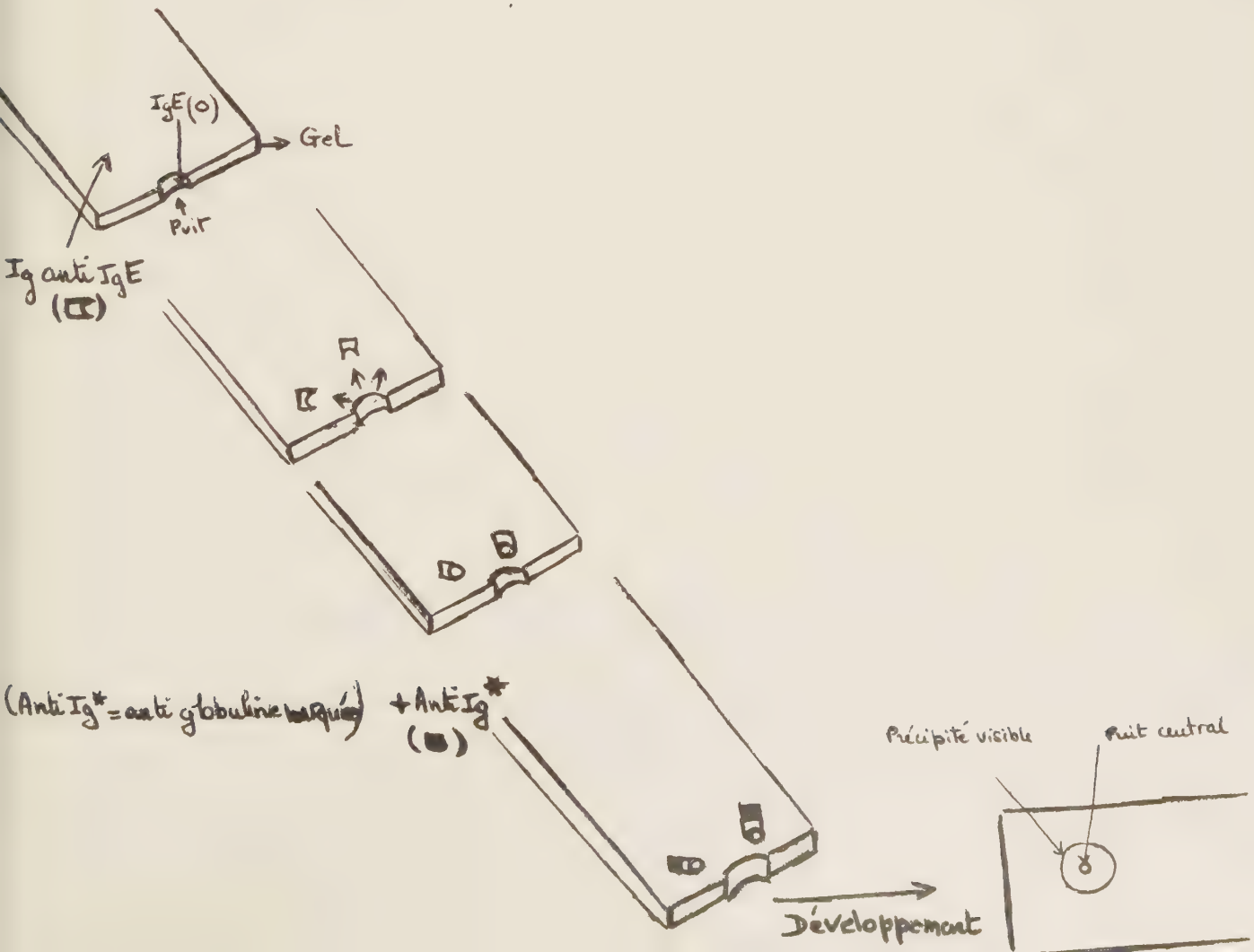
⇓

Précipitation des complexes solubles

↓

Centrifugation, comptage du précipité et comptabilisation par rapport au comptage lorsque l'IgE marquée est utilisée seule.

Schéma D : Principe du S.R.D.



Ainsi, pour le dosage des IgE chez un sujet ayant un déficit isolé de cette immunoglobuline, les taux sériques étaient, suivant les méthodes : 189 ng/ml pour le BAC, 55 ng/ml avec le Sephadex, 9 ng/ml pour la méthode de Gleich. Les auteurs concluaient d'autre part que la limite de détection par BAC était de 30 ng/ml avec une variation dans les résultats de l'ordre de 13,7 % lors de dosages faits en des jours différents. Pour le Sephadex, la limite inférieure de détection était de 18 ng/ml avec une variation du résultat de l'ordre de 28,2 %. Par contre, la méthode de Gleich permettait de doser 2-4 ng/ml avec une variation de 2,6 %. Elle apparaissait donc plus sensible et plus fiable.

2/ Méthode de Rowe :

Elle est basée sur la migration de l'IgE dans un gel où l'anti IgE est inclus : c'est le principe de la méthode de Mancini (SRD, Single Radial Diffusion) (3). Cependant, la limite de détection de cette méthode est de 0,01 mg/ml, ce qui n'est pas suffisant pour détecter les taux faibles d'IgE. Aussi, en 1968, Rowe proposa-t-il une méthode d'immunodiffusion radiale simple radioactive, en gel d'Agar (79) : on incorpore de l'anti IgE humaine de mouton dirigée contre le fragment Fc, dans un gel d'Agar. Puis des puits sont creusés, et on les remplit, soit par l'IgE de référence (68/341), soit par le sérum testé, à des dilutions croissantes. La concentration d'IgE étant trop faible pour que le précipité soit visible à l'oeil nu, on lave alors la plaque, et l'on ajoute des gammaglobulines de lapin marquées à l'I_{131}, anti IgG de mouton. Après nouveau lavage, on applique un film photographique que l'on révèle : autour de chaque réservoir se trouve un cercle de précipitation dont le diamètre est comparé à ceux que donnent les dilutions d'une solution étalon d'IgE dont on connaît la concentration (le carré du diamètre en mm est fonction de la concentration) (schéma D).

Selon l'auteur, la limite de sensibilité est de 40 ng/ml. Cabanien et collaborateurs, lors d'une étude du taux des IgE dans différents syndromes allergiques proposèrent comme limite de sensibilité 60 ng/ml environ (18).

B - METHODES NON RADIOIMMUNOLOGIQUES :

Toutes les méthodes précédemment citées utilisent de l'iode radioactif 125 ou 131, ce qui en fait des techniques onéreuses. Le stockage des marqueurs est de plus problèmatique, car ceux-ci ne sont pas stables (la demi-vie de l'iode 125 est de 60 jours, celle de l'iode 131, 8 jours).

./...

Il est à noter qu'en France existe une règlementation concernant la compétence des personnes pouvant être autorisées à utiliser des radio-éléments artificiels (J.O. du 20 avril 1974).

D'autres méthodes, non radio-immunologiques ont été proposées :

1/ Celle d'Hoffman (25-35) : ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent assay. Il s'agit d'une méthode d'inhibition radio-immunologique modifiée dans laquelle le marqueur est une enzyme, la phosphatase alcaline, non radio active, conjuguée à de l'IgE purifiée. La lecture se fait par absorption. Cette méthode, fidèle, peu onéreuse car n'utilisant pas de produits radioactifs, a une sensibilité de l'ordre de 10 ng/ml, avec une reproductibilité de l'ordre de 3 %, pour une corrélation à 0,97 avec les dosages radio-immunologiques (35).

2/ Centifanto et Kaufman (20) ont proposé un dosage de l'IgE utilisant des anti IgE humaines de mouton coulées dans l'agar, puis mises en contact avec du sérum humain. Après lavage, on ajoute des gammaglobulines G de rat anti mouton marquées à l'isocyanate de fluorescéine. La lecture se fait en lumière ultra violette. Cette méthode, rapide, peu coûteuse a l'avantage de ne pas utiliser d'IgE marquées, mais elle n'est pas très sensible : la sensibilité est moindre que celle de la technique de Rowe.

On trouvera ci-après un tableau du seuil de sensibilité des méthodes utilisées pour le dosage global des IgE.

METHODES	SEUIL DE SENSIBILITE (en ng/ml)
RIST	18
GLEICH et Coll.	2 - 4
CESKA et LUNDKVIST	4
ROWE	40 - 60
ELISA	10
CENTIFANTO et KAUFMAN	60

./...

IV - METHODES EVALUANT LE TAUX DES IgE VIS-A-VIS D'UN ALLERGENE DONNE :

Contrairement aux méthodes évaluant globalement les IgE, il existe des tests utilisant des principes différents : soit la radioimmunologie (RAST, Tests de Ishizaka (K) et (T)), l'hémagglutination indirecte (RCLAAR), soit le transfert passif in vivo des IgE (Test de Prausnitz-Kutsner, Anaphylaxie cutanée passive chez le singe) soit enfin la dégranulation des mastocytes de rat.

A/ TESTS RADIOIMMUNOLOGIQUES :

Ils furent utilisés par les pères de l'IgE : Johansson, Bennich et Wide d'une part, Ishizaka (K) et (T) d'autre part.

1/ Johansson, Bennich et Wide proposèrent en 1967 le "RAST" (Radioallergosorbent test) (87), qui consiste à coupler l'allergène au dextrane insoluble, puis à mettre à leur contact le sérum étudié. La quantité d'IgE ayant réagi avec l'allergène est ensuite évaluée à l'aide d'un sérum spécifique anti IgE marqué à l'I_{125}, réagissant avec le complexe insoluble dextrane-allergène-IgE. Le taux des IgE est évalué grâce à la radioactivité du complexe insoluble (schéma E).

Ce test ne détecte pas de faible sensibilisation à un allergène donné. La radioactivité est de 100 à 200 cpm (coups par minute) chez le sujet normal. Une réaction est considérée comme positive si cette radioactivité est supérieure à une fois et demie celle du sujet normal. La corrélation avec les tests de provocation est de 76,7 % en cas de résultats positifs, et de 70,5 % en cas de résultats négatifs (8).

Le "RAST" a aussi été utilisé pour mesurer quantitativement le taux d'IgE par rapport à un allergène donné. La radioactivité du complexe insoluble, comparée à celle donnée par un standart étalon a permis de donner des résultats exprimés en pour mille par rapport au standart.

Cependant, comme le rappellent les auteurs (45), les résultats doivent être interprétés en fonction de la concentration de l'allergène (or, actuellement, il n'existe pas encore de standardisation des allergènes).

./...

Schéma E : Principe du R.A.S.T.

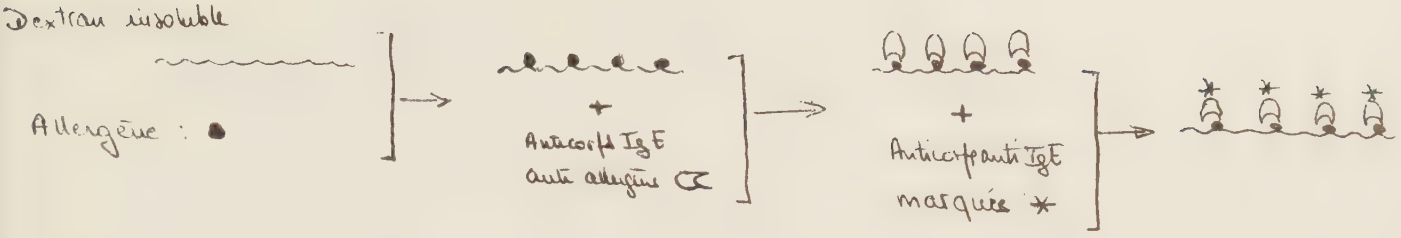


Schéma F : Principe du R.C.L.A.A.R.

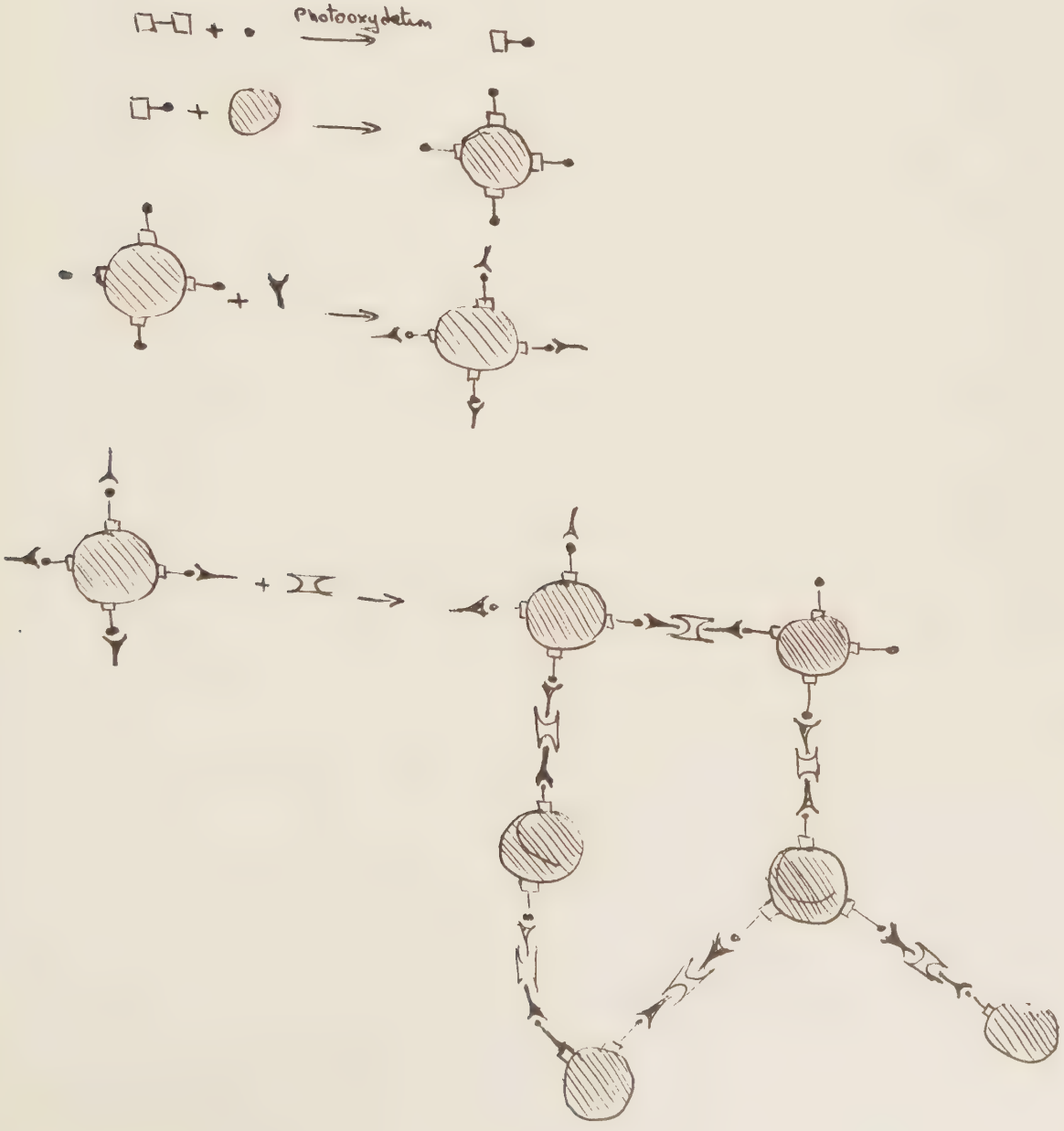
□-□ = Anticorps anti-hématies

• = allergène

(•) = Globule rouge

Y = IgE anti allergène

II = anticorps anti IgE



2/ Ishizaka (K) et Ishizaka (T) ont proposé de doser l'activité réaginique des sérums par radioimmunodiffusion de type Ouchterlony (39-40), en plaçant dans le puit central creusé dans l'agarose, des anticorps de lapin anti IgE, et dans les puits périphériques le sérum étudié. Après incubation puis lavage, on ajoute l'antigène (de type E) marqué à l'I_{131}. Après incubation de 24 heures et lavage de deux jours en saline, on applique un film photographique afin de révéler les précipités. (la radioactivité des lignes de précipitation est proportionnelle à la concentration d'IgE sensibilisante à l'allergène).

Ces mêmes auteurs ont étudié le pouvoir de combinaison de l'IgE avec l'allergène radioactif (38). Cette fois-ci, le sérum était incubé avec l'allergène marqué, et le complexe ainsi formé précipité par un sérum de lapin anti IgE. Le pouvoir de combinaison de l'IgE était alors déduit de celui des anticorps de lapin anti IgE. Cette dernière méthode ne donne donc pas de valeur de l'IgE, elle apprécie son activité.

3/ Le RCLAAR (Red-Cell-linked antigen-antiglobulin reaction)

Mis au point en 1953 par Coombs, ce test a pour particularité d'utiliser l'hémagglutination indirecte. Il fut appliqué à l'IgE en 1968 par son auteur (23-24). Le principe en est le suivant : par photo-oxydation, on transforme des anticorps de lapin anti-hématies en anticorps incomplets. Puis on lie l'allergène aux hématies, et on le met en contact avec les anticorps incomplets de lapin. Les hématies ne sont pas agglutinées, et l'allergène ainsi fixé peut réagir avec les anticorps spécifiques du sérum étudié. L'agglutination se fait ensuite par des antisérums spécifiques anti IgE. Le titre est donné par la dilution limite du sérum entrainant une aggluitnation (une méthode utilisant l'inhibition de l'hémagglutination a été proposée pour doser globalement la valeur de l'IgE, mais elle est peu sensible : 200 ng/ml) (67) (schéma F).

C - TESTS DE TRANSFERT PASSIF IN VIVO DES IgE :

Il s'agit de la réaction de Prausnitz-Kütsner et de l'anaphylaxie cutanée passive chez le singe.

./...

1/ La réaction de Prausnitz-Kütsner (76) permet d'apprécier la quantité minimum d'IgE provoquant une réaction cutanée positive pour un antigène (38-40). Pour l'antigène E d'Ambrosie, elle correspond à 2×10^{-6} g d'azote d'anticorps de lapin γ anti IgE. (cette valeur résultant de la réaction utilisant le pouvoir de combinaison de l'IgE avec l'allergène radioactif).

Cette méthode n'est pas sans inconvénients. En effet, elle est déplaisante pour le témoin, qui de plus peut présenter une forte réaction s'il est hypersensibilisé. De plus, le risque d'inoculation de l'hépatite virale n'est pas négligeable.

Actuellement; l'intérêt de cette réaction a diminué du fait des nouvelles méthodes qui permettent de doser les IgE. Cependant, il ne faut pas oublier que près de cinquante ans se sont écoulés entre l'isolement des IgE et le jour où... : l'un des collaborateurs de Prausnitz, Kütsner, ne pouvait ingérer de poisson cuit sans présenter rapidement une réaction cutanée. Le 19 juillet 1920, Prausnitz s'injecta dans le derme du sérum de son collaborateur. Le lendemain, au même endroit, il s'injecta une protéine de poisson cuit et présenta une réaction cutanée analogue à celle de Kütsner. C'est la première réaction de Prausnitz-Kütsner qui suppose le transfert d'un anticorps du sérum de sujet allergique à la peau d'un sujet sain (76). Cet anticorps, susceptible de faire réagir la peau lors d'une injection provocatrice d'antigène fut appelé réagine, et c'est en 1967 que les réagines furent identifiées aux IgE, anticorps responsables de la réaction.

Un test in vitro a été proposé (32), utilisant des coupes de peau humaine sensibilisées par du sérum d'individus allergiques. La présence d'IgE spécifique est alors détectée par le dosage d'histamine libérée. L'intérêt majeur de ce test est d'éliminer tout risque d'hépatite virale.

2/ L'anaphylaxie cutanée passive chez le singe Macaccus (56-57)

Ce test décrit en 1962 utilise un singe sensibilisé par une injection intra dermique de sérum de sujet allergique. Deux jours plus tard (ce qui permet aux réagines de se fixer), on injecte du Bleu d'Evans dilué dans du sérum physiologique, par voie veineuse. L'antigène est alors injecté, lui aussi par voie veineuse. Si le sujet est allergique, il ya extravasation

./...

du Bleu d'Evans par anaphylaxie cutanée passive, deux à trois heures après l'injection de l'antigène.

Les résultats sont notés en croix (+ à +++), suivant l'étendue de l'extravasation.

D - LA DEGRANULATION DES MASTOCYTES DE RAT (RMCD = Rat mast cell degranulation):

Mis au point par Sheeley en 1962 (80), utilisé en allergologie (51), le test fut modifié par Perelmater et Khera (72-73) ainsi que par Korotzer et Haddad (52-53).

Le sérum du patient est mis en présence de l'antigène (extraits de pollen, anti IgE de lapin...), ainsi que des mastocytes de l'intestin de rat. Après s'être assuré qu'isolés, l'antigène ni le sérum ne provoquent pas de dégranulation, on compte au microscope cent mastocytes en repérant ceux qui sont altérés (l'atteinte de la membrane cellulaire faisant sortir les granules) Cette dégranulation est proportionnelle à la quantité d'IgE du sérum sensibilisant.

Certains auteurs contestent la valeur de ce test revendiquant le caractère homocytotrope des IgE (78).

E - LE TEST DES ROSETTES :

Un autre test utilise le contact entre basophiles et le sérum testé. On ajoute alors à ce système des hématies enduites d'allergènes. Il se forme alors des rosettes dont le nombre est proportionnel au taux d'IgE du sérum sensibilisant (89).

F - LE TDBH :

TOut récemment a été mis au point un test de dégranulation des basophiles humains : le TDBH (62). Ce test utilise du sang veineux prélevé sur anticoagulant, dilué ensuite en saline, et introduit dans de fins catheters où est déposé un mélange de Triosil-Ficoll. Après centrifugation, on obtient trois couches, celle du centre contenant entre autre les basophiles. Cette couche peut être isolée et déposée sur lame préalablement colorée par une solution alcoolique de rouge neutre. Puis on ajoute la solution d'antigène

./...

avec du sérum, l'observation se faisant sous microscope avec filtre bleuté. Le résultat est considéré comme positif lorsque plus de 30 % des basophiles sont pathologiques. D'après les auteurs, la variabilité de l'épreuve est d'environ 10 %, avec un seuil de sensibilité à environ 125 UI/ml.

V - CONCLUSION :

Ce chapitre, consacré aux différentes méthodes de dosage des IgE donne une idée de la variété des techniques utilisées. Nombreuses sont les méthodes utilisant des composés radio-actifs, permettant un dosage précis et nécessitant en France une compétence particulière. Des essais, faits par dosage non radioimmunologique n'ont pas encore atteints cette précision.

La mise en évidence de fractions d'IgE dirigées contre un allergène déterminé, par des méthodes sélectives permet de certifier l'allergie à un antigène particulier, alors que les méthodes globales ne peuvent que dépister l'allergie en général. Mais, indépendemment du coût (souvent élevé), il est gênant de ne pouvoir disposer d'allergènes standardisés.

Toutes ces méthodes, qui n'étaient auparavant utilisées que par des laboratoires hautement spécialisés commencent à être commercialisées. Ainsi, actuellement, il est possible de doser l'IgE lorsque son taux est supérieur à 600 UI (31).

CHAPITRE II : TECHNIQUE DE DOSAGE DE L'IgE UTILISEE DANS NOTRE LABORATOIRE

I - PRELEMINAIRES.

II - RAPPELS

- A - LA PRECIPITATION EN MILIEU GELIFIE
- B - LA METHODE D'OUCHTERLONY

III - LE DOSAGE PROPREMENT DIT

- A - INTRODUCTION
- B - LES REACTIFS
- C - LA PREPARATION DU GEL
- D - LA CONFECTION DES PUITS ET LEUR REMPLISSAGE
- E - LA LECTURE
- F - LA CONSERVATION DES LAMES
- G - SENSIBILITE DE LA METHODE - EXPRESSION DES RESULTATS

IV - CONCLUSION PARTIELLE (II)

I - INTRODUCTION :

Avant d'aborder la technique de dosage semi-quantitative des IgE utilisée dans notre laboratoire, il sera fait deux rappels, le premier concernant les principes généraux de la précipitation en milieu gélifié, le second sur la méthode d'Ouchterlony.

Puis l'on trouvera la description détaillée de la technique ainsi que le mode de conservation des lames par coloration. L'étude de la sensibilité de la méthode sera suivie d'une discussion concernant l'interprétation des résultats.

Dans la conclusion on trouvera, outre les avantages et inconvénients de cette méthode, la position que nous prenons vis-à-vis de son intérêt pratique.

II - RAPPELS :

A - LA PRECIPITATION EN MILIEU GELIFIE (13) (50) :

Un gel, ou milieu gélifié est un milieu semi-liquide constitué par la dispersion d'une phase liquide dans une phase solide.

La diffusion régulière est obtenue grâce à un système de canaux plus ou moins anastomosés, formant un réseau, constitué par la phase liquide (le diamètre de ces canaux est d'autant plus étroit que la concentration initiale de la phase solide est plus forte).

La concentration d'une espèce moléculaire tend à être uniforme en tous les points de la phase liquide, car la diffusion est liée à l'agitation moléculaire. Elle l'est aussi à la température ambiante (elle augmente avec elle) et au volume des molécules (les grosses molécules diffusant plus lentement que les petites).

La plupart des gels utilisés en immunologie n'étant pas inertes, ils possèdent une charge électrique susceptible d'interférer avec celles des molécules qui diffusent.

Etant donné la régularité et la progression des phénomènes de diffusion, on obtient, à partir du point où l'on place l'un des réactifs, tout une gamme de concentrations décroissantes, celles-ci étant équivalentes dans une même surface, mais variant avec le temps. Si l'on fait alors diffuser un deuxième réactif vers le premier, on augmente la probabilité pour que soit

./...

réalisé, en un point, le rapport de concentration optimum, celui de la zone d'équivalence, qui seul permet la précipitation (en se plaçant dans le cadre de la réaction antigène-anticorps).

Les complexes "antigène-anticorps", qui sont de gros amas moléculaires sont alors placés dans les mailles du gel. Un lavage permet alors d'éliminer les molécules libres d'antigène et d'anticorps.

B - LA METHODE D'OUCHTERLONY (70-71) :

A partir de deux puits creusés dans un gel inerte (gélatine ou agarose), on fait diffuser l'un vers l'autre un antigène et son anticorps correspondant, précipitant ou floculant. Une ligne de précipité apparaît alors entre les deux puits lorsque le rapport des concentrations est situé dans la zone d'équivalence. La position de cette ligne est fonction des concentrations initiales et de la rapidité de migration des deux réactifs. Si l'on met en présence un mélange d'antigènes et d'anticorps différents, de nombreuses réactions apparaissent, et les différents systèmes réagissent indépendamment les uns des autres.

Grâce à cette méthode, on peut détecter 0,5 à 3 g/ml d'anticorps, (59-81), ce qui est inférieur aux méthodes de Preer ou d'Oudin (50-59), qui elles aussi utilisent la précipitation en milieu gélifié. Un dérivé de la méthode d'Ouchterlony a été utilisé par Heiner et Bram pour le dosage des IgE (33)(34).

III - LE DOSAGE PROPREMENT DIT :

A - INTRODUCTION :

Après présentation des divers réactifs, en l'occurence le sérum du patient et l'anti IgE, seront décrites les différentes phases qui à partir de la préparation des lames aboutissent à la lecture de celles-ci, et si on le désire à leur conservation par coloration. Enfin sera exposée l'expression des résultats, tels qu'ils sont rendus en pratique.

B - LES REACTIFS :

Ce sont le sérum pur, le sérum concentré six fois et l'anti IgE.

1/ Après prélèvement veineux sur tube sec, le sang du patient est centrifugé dix minutes à environ 3 000 tours minute. Le sérum est alors sépa-

./...

ré, et s'il n'est pas utilisé le jour même, on le conserve par congélation à - 35°C.

2/ On utilise aussi le sérum concentré,six fois, préparé de la façon suivante : 1;2 ml de sérum sont déposés dans un petit tube. Après congélation, le sérum est lyophilisé durant deux heures. On reprend alors le lyophilisat par 0,2 ml d'eau distillée, et on laisse à la température du laboratoire jusqu'à dissolution complète, soit environ trente minutes. S'il n'est pas utilisé de suite, le sérum concentré peut être conservé à -35°C.

Nous utilisons l'anti IgE Nordic, qui provient du porc. Elle ne donne pas de réaction croisée avec les immunoglobulines G,A,M,D, ni avec les deux types de chaînes légères. Utilisée en méthode radioimmunologique, elle détecte 5 ng/ml d'IgE (66). D'autres anti IgE ont été testées, mais elles furent abandonnées pour défaut de sensibilité. Ainsi, l'anti IgE Eurobio (26) testée sur 36 sujets allergiques et six témoins normaux donna des résultats positifs avec un témoin. Avec les sérums pathologiques, on retrouva souvent la présence de deux traits de précipitation en plus du trait de positivité. L'anti IgE Hyland (37) testée sur 20 sujets allergiques et 16 témoins normaux montra des résultats voisins à ceux de l'IgE que nous utilisons, mais dans l'ensemble moins sensibles.

C - LA PREPARATION DU GEL :

Elle comporte deux temps : la préparation du support, ou collant, puis celle du gel proprement dit :

1/ On prépare tout d'abord une solution d'agarose à 0,2 % en eau distillée (17). Pour ce, on dépose la quantité désirée d'agarose en poudre, préalablement pesée, dans un becher, et l'on ajoute l'eau distillée nécessaire. Le becher, dans lequel on place un barreau aimanté, est posé sur un agitateur chauffant à 80°C, et ce jusqu'à transparisation de la solution. On coule alors, rapidement à la pipette 10 ml de la solution d'agarose sur des la lames de verre (4,4 X 10,7 cm) disposées sur une paillasse dont on a auparavant vérifié l'horizontalité. Puis on laisse refroidir jusqu'à solidification.

Il nous semble opportun de rappeler ici que les lames de verres avant leur utilisation, sont tout d'abord rincées à l'eau, puis frottées à la

./...

brosse avec de la terre réfractaire (afin d'éviter toute rayure). Ensuite, elle sont rincées à l'eau courante, puis à l'eau distillée. Séchées à l'aide de compresses, elles sont ensuite mises dans des boîtes métalliques, enveloppées de compresses. La stérilisation a lieu durant 3 heures à 120°C, en présence de bandes témoins.

Après solidification, les plaques sont recouvertes d'une feuille de papier filtre, et laissées une nuit à la température du laboratoire. On obtient alors, du fait de l'évaporation, une fine pellicule d'agarose sur toute la surface de chaque lame (le papier filtre ayant empêché la rétraction du gel). Cette couche sert à mieux faire adhérer à la lame la couche d'agarose où l'on va pratiquer la réaction.

2/ Cette première phase terminée, on prépare une solution d'agarose à 1 % dans du tampon pH 8,2, dont la formule est la suivante (pour 5litres) :

HCl N = 57,5 ml
Véronal sodique = 39,65 g
H_2O QSP = 5 000 ml
Merthiolate (antiseptique) = 1 g

(le tampon est ajusté au pH mètre)

La solution d'agarose est alors mise sur agitateur chauffant à 80°C, jusqu'à transparisation, selon le même procédé utilisé lors de la première couche. Sur une paillasse très plane, on coule alors rapidement à la pipette 15 ml de cette solution sur les lames précédemment préparées.

Lorsque la solidification est obtenue, les lames sont conservées dans une chambre humide pour éviter toute dessication.

Les lames sont alors prêtes à l'emploi. Si on le désire, elles peuvent être ainsi conservées en les plaçant dans des boîtes contenant des compresses humides, placées à + 4°C. Cependant mieux vaut les utiliser juste après leur fabrication, car l'évaporation risque de diminuer l'épaisseur de la couche d'agarose.

./...

D - LA CONFECTION DES PUITS ET LEUR REMPLISSAGE :

Les puits sont tout d'abord découpés à l'aide d'un emporte-pièce et leur contenu retirés à l'aide d'un hémostyl. Le puit central, d'un diamètre de 4 mm est distant des quatre puits périphériques de 3 mm, ces derniers ayant un diamètre de 7 mm.

Le remplissage des puits est effectué à l'aide d'une pipette Pasteur. On considère que l'épaisseur de la couche d'agarose est d'environ 3,2 mm. La contenance des puits périphériques est donc de 0,1 ml à 0,12 ml, celle du puit central de 0,03 ml.

Au centre est déposée l'anti IgE. Dans l'un des puits périphériques on dépose le sérum pur, et dans le puits diamétralement opposé le sérum concentré six fois après lyophilisation.

Les lames sont alors déposées dans des chambres humides laissées à la température ambiante. Le lendemain, le puit du sérum pur est rechargé de façon à sensibiliser la réaction. Les lames sont alors déposées dans des chambres humides et placées à + 4°C. Une lecture est faite tous les deux jours jusqu'au cinquième jour.

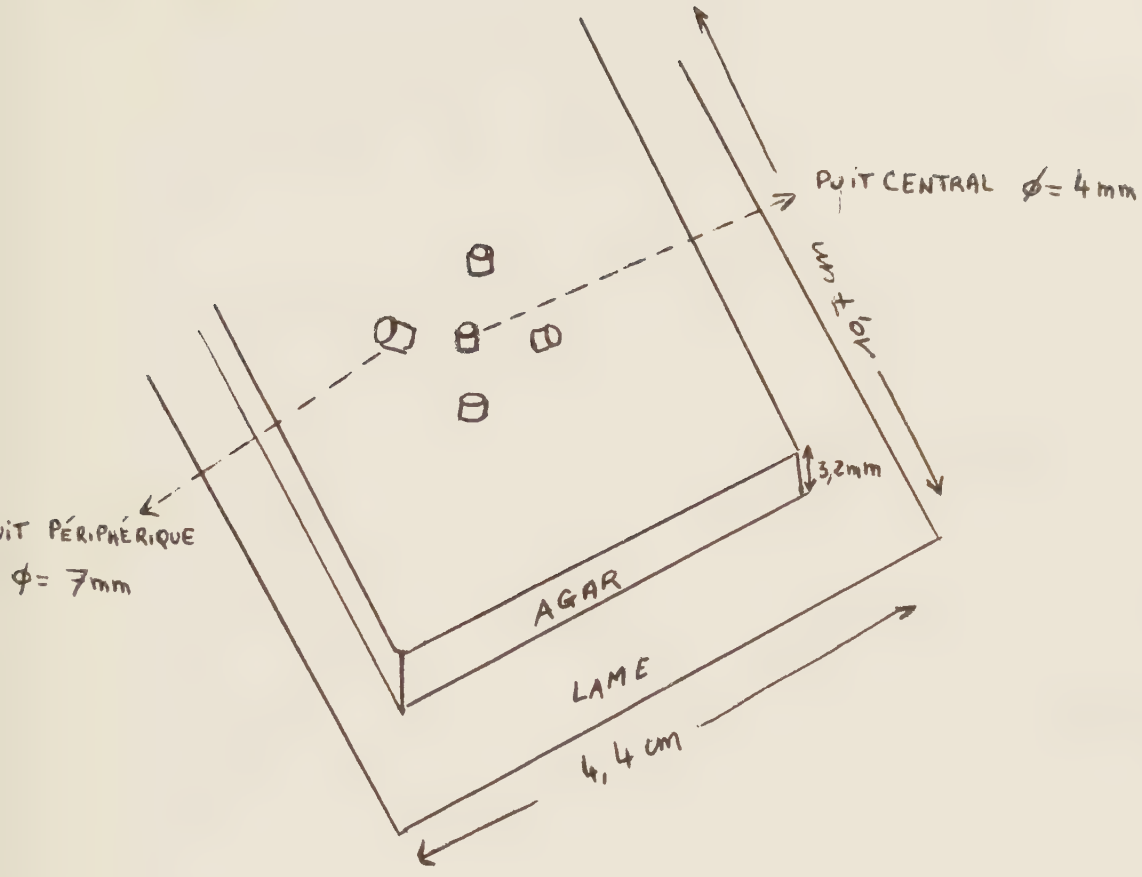
Deux points particuliers méritent un plus ample développement : la recharge du sérum pur, et l'utilisation du sérum concentré six fois après lyophilisation.

Le premier tableau est une étude comparative de 22 sérums testés non rechargés, puis rechargés :

	SERUMS NON RECHARGES	SERUMS RECHARGES
TEMOINS NORMAUX	8 NEGATIFS	8 NEGATIFS
SERUMS D'ALLERGIQUES	6 POSITIFS	6 POSITIFS
	8 NEGATIFS	3 POSITIFS 5 NEGATIFS

TABLEAU I : COMPARAISON ENTRE SERUMS RECHARGES ET SERUMS NON RECHARGES

./...



ASPECT SCHÉMATIQUE DE LA LAMELLE

Sur les 22 sérums, huit étaient des témoins normaux. Les résultats demeurèrent négatifs après recharge. Sur les 14 sérums de patients allergiques, 6 donnèrent une réponse positive avec le sérum pur que l'on retrouva avec la recharge. Par contre, sur les huit résultats négatifs, 3 donnèrent une réponse positive lors de la recharge, qui sensibilisait donc la réaction.

Pour le sérum concentré 6 fois, une étude comparative entre le sérum concentré et le sérum pur rechargé, ce sur 65 patients allergiques et sur 111 témoins normaux (voir deux tableaux suivants) :

	TESTES	POSITIFS	NEGATIFS
SERUM PUR RECHARGE	65	22	43
SERUM X 6*	65	36	29

TABLEAU II : COMPARAISON ENTRE SERUM PUR ET SERUM X 6 CHEZ LES SUJETS ALLERGIQUES

* X 6 = CONCENTRE SIX FOIS.

	TESTES	POSITIFS	NEGATIFS
SERUM PUR RECHARGE	111	0	111
SERUM X 6	111	4 douteux	107

TABLEAU III : COMPARAISON ENTRE SERUM PUR ET SERUM X 6 CHEZ LES TEMOINS NORMAUX

Chez les sujets allergiques, 22 sérums furent trouvés positifs avec le sérum pur rechargé, alors qu'avec le sérum concentré six fois 36, soit 14 de plus.

Chez les témoins normaux, le sérum pur rechargé ne montrait aucune positivité, 4 fois avec le sérum concentré six fois, les résultats étaient légèrement positifs.

Il apparaît donc que le fait de concentrer le sérum sensibilise la réaction.

.§...

E - LA LECTURE :

Le cinquième jour, les lames sont immergées durant quatre heures dans un bain de citrate de sodium à 5 %, et lues immédiatement après sur fond noir, avec ou sans loupe, par éclairage latéral.

Le bain de citrate élimine les traits de précipitation dus à la proteine C présente dans de nombreux antigènes parasitaires, et semblable au polysaccharide C du pneumocoques, pouvant provoquer de fausse réaction de précipitation avec les sérums de malades atteints d'affections variées (tuberculose, rhumatisme articulaire aigü, affections parasitaires ...).

Une telle réaction est facile à éliminer en milieu gélifié par l'aspect du trait de précipitation qui est large, flou, situé près du réservoir du sérum, et surtout soluble dans une solution aqueuse de citrate de sodium à 5 % (14-15-58-74). En fait, ces traits de précipitation ne sont pas fréquents lors du dosage de l'IgE, mais le bain de citrate permet d'éliminer tout doute concernant la spécificité de l'arc de précipitation.

F - LA CONSERVATION DES LAMES :

Les lames sont lavées pendant 12 heures dans un premier bain d'eau physiologique sur un agitateur basculant, puis 12 heures dans un deuxième bain selon le même procédé. Puis on les lave à l'eau distillée pendant 1 heure. Les lames sont alors séchées à la température ambiante durant une journée, recouverte de papier filtre.

La coloration se fait à l'Amido-Schwartz à 5 %0 (2,5 g pour 500 ml d'un mélange de méthanol (9 volumes) et d'acide acétique (1 volume)) en immergeant les lames une demi-heure. (L'amido Schwartz, une fois préparée doit être utilisé à partir de la deuxième semaine, afin qu'il "murisse". Il n'est plus utilisable 1 mois après sa préparation).

L'excès de colorant est retiré en immergeant les lames 30 minutes dans une solution de méthanol (9 vol.) et d'acide acétique (1 vol.). Le fond de la plaque est alors décoloré par du tampon pH 8,2. Puis on rince à l'eau distillée, et on laisse sécher une nuit à la température ambiante, ou 5 à 10 minutes à l'étuve à 80°C.

./...

Cette méthode permet de ne colorer que l'arc de précipitation.

G - SENSIBILITE DE LA METHODE - EXPRESSION DES RESULTATS :

Afin de connaître la sensibilité de la méthode, un sérum de malade allergique fut adressé à un laboratoire pour être dosé selon la méthode R.A.S.T. Le taux d'IgE de ce sérum était le suivant : 2 380 UI/ml, soit environ 5 800 ng/ml. Ce sérum fut alors testé selon notre méthode, et ce à des dilutions croissantes. On notait l'existence d'un trait de précipitation jusqu'au 1/10, et l'absence de trait au 1/12. La méthode permettait donc de mettre en évidence environ 500 à 600 ng/ml d'IgE dans le sérum.

Un second sérum, donnant un résultat négatif avec le sérum concentré six fois lui aussi testé de la même façon. Le taux d'IgE était de 420 ng/ml.

Afin de rendre aux cliniciens des résultats interprêtables, nous leur indiquons l'existence ou non d'une élévation du taux de l'IgE, en partent des résultats obtenus sur nos plaques, et ce de la façon suivante (voir tableau).

SERUM PUR	SERUM X 6	INTERPRETATION
TRAIT TRES NET	TRES NET	IgE FORTEMENT AUGMENTEES
TRAIT NET	NET	IgE NETTEMENT AUGMENTEES
TRAIT DOUTEUX	NET	IgE MODEREMENT AUGMENTEES
TRAIT NUL	NET	IgE LEGEREMENT AUGMENTEES
TRAIT NUL	DOUTEUX	IgE A PEINE AUGMENTEES
TRAIT NUL	NUL	PAS D'AUGMENTATION NOTABLE

TABLEAU : APPRECIATION DES RESULTATS.

Il est bien évident que le but de notre technique n'est pas de rendre un résultat précis (le dosage n'étant pas assez sensible, comparativement à d'autres méthodes). Cependant, en règle générale, lors d'allergie, le taux peut être considéré comme significatif à partir de 700 ng/ml.

./...

Aussi, nous pensons qu'il n'est pas nécessaire de pouvoir donner un résultat inférieur à 500 ng/ml, celui-ci ne pouvant être que difficilement interprêtable.

On peut reprocher à la méthode son manque de sensibilité chez l'enfant. En effet, celui-ci ayant un taux de base inférieur à celui de l'adulte, en cas d'élévation il est possible d'avoir un résultat négatif si le taux est inférieur au seuil de sensibilité de la méthode. Il faut donc être très prudent dans l'interprêtation des résultats négatifs chez le petit enfant.

D'autre part, la méthode ne permet pas de mettre en évidence les taux anormalement bas de l'adulte.

Nous pensons cependant que la sensibilité est largement suffisante pour la pratique courante, ce à quoi est destinée la méthode.

IV - CONCLUSION :

La méthode de dosage semi quantitatif d'Ouchterlony appliquée au dosage des IgE a un seuil de sensibilité de 500-600 ng/ml. Les valeurs normales oscillant vers 250 ng/ml, son but est principalement de dépister d'éventuelles augmentations du taux de l'IgE. Il n'est pas inutile de rappeler que les limites normales de variation ne sont pas encore nettement codifiées, si bien qu'il est difficile d'affirmer une augmentation en deça de 500 ng/ml.

Chez l'enfant, la méthode est moins sensible que chez l'adulte, car il est possible d'avoir de faux résultats négatifs.

Le coût de revient n'est pas trop élevé, et le dosage peut être effectué en grand nombre. Quant aux manipulations, elles sont relativement faciles à exécuter.

Nous pensons que cette méthode répond en grande partie aux besoins de la pratique courante.

./...

CHAPITRE III :

ETUDE DE NOS CAS
RESULTATS OBTENUS DANS
L'ASTHME CLINIQUE, L'ALLERGIE CUTANEE, L'ASTHME ASSOCIE

I - INTRODUCTION.

II - LES TEMOINS.

III - ETUDE DE NOS CAS :

1/ Préliminaires

2/ Sérums étudiés pour asthme clinique

3/ Sérums étudiés pour allergie cutanée

4/ Sérums étudiés pour asthme associée

IV - CONCLUSIONS PARTIELLES (III)

I - INTRODUCTION :

La méthode précédemment décrite a été utilisée pour l'étude de 156 sérums adultes pris comme témoins, puis pour l'étude de sérums provenant de trois groupes de sujets, adultes et enfants. Nous avons étudié les sérums provenant de sujets présentant un asthme clinique, de sujets présentant des manifestations cutanées pouvant évoquer une origine allergique, et de sujets associant à l'asthme soit une autre manifestation clinique susceptible d'être de nature allergique, soit une pathologie autre. Puis nous avons tiré les conclusions à partir des résultats obtenus.

II - LES TEMOINS :

156 sérums d'adultes (145 femmes et 11 hommes), repartis entre le personnel hospitalier (laborantines, étudiants, élèves infirmières surtout, hotesses ...) furent testés. Les personnes ayant signalé une allergie quelle qu'elle soit ont été éliminées. Chez deux sujets, considérés à priori comme témoins normaux, l'étude du sérum a montré une forte teneur en IgE qui s'est révélée être, dans les deux cas provoquée par une bilharziose intestinale méconnue. Aucun sérum d'enfant n'a été utilisé comme témoin, leur faible teneur en IgE pouvant être à l'origine de résultats trop bas. La moyenne d'âge des témoins était située entre 19 et 25 ans. Notre groupe de témoins n'est donc pas représentatif d'une population générale, puisque surtout constitué de jeunes femmes. Cela ne nous semble pas présenter d'inconvénients dans cette étude. Celle-ci a été faite comme suit : 33 sérums n'ont pu être rechargés car leur quantité était insuffisante, et sur les 123 autres, 111 furent rechargés concentrés six fois. Les résultats obtenus furent les suivants :

	SERUMS NON RECHARGES	SERUMS RECHARGES PURS	SERUMS RECHARGES CONCENTRES 6 FOIS
SERUMS TESTES	33	123	111
PRECIPITE ABSENT AVANT LAVAGE AU CITRATE DE SOUDE	32	121	97
PRECIPITE ABSENT APRES LAVAGE AU CITRATE DE SOUDE	33	123	107
PERSISTANCE D'UN TRAIT DE PRECIPITE DOUTEUX APRES LAVAGE AU CITRATE DE SOUDE	0	0	4
PERSISTANCE D'UN TRAIT DE PRECIPITE NET APRES LAVAGE	0	0	0

TABLEAU I : ETUDE DES SERUMS TEMOINS.

./...

Ce tableau montre que :

1/ Avant tout lavage au citrate, il existait 17 traits de précipité

- 1 lors de l'étude des sérums non rechargés.
- 2 lors de l'étude des sérums purs.
- 14 lors de l'étude des sérums concentrés six fois.

Après le bain de citrate ne persistaient que 4 traits "douteux". 13 traits ont donc été éliminés par le lavage, soit dans 76 % des cas, ce qui démontre de nouveau l'intérêt du bain au citrate de soude.

2/ Après lavage au citrate ne persistaient que 4 traits douteux, lors de l'étude des sérums concentrés 6 fois, soit dans 3,6 %. Aucune étiologie ne fut mise en évidence pour ces quatre sérums qui font probablement partie des sérums de sujets ayant un taux d'IgE légèrement élevé : 5 % des adultes ont un taux supérieur à 700 ng/ml selon Johansson (42), le taux moyen étant de 248 ng/ml.

III - ETUDE DE NOS CAS :

1/ Préliminaires :

Les sérums étudiés provenaient pour la plupart des divers services de l'hôpital de Gonesse, et pour quelques uns, de sujets prélevés au laboratoire même, en "externe".

La technique de mise en évidence des IgE fut celle décrite au chapitre "DOSAGE DE L'IgE", et elle s'applique au total à 179 sérums que nous avons arbitrairement séparés en trois groupes :

- le premier groupe, formé de 112 sérums, qui nous ont été adressés pour asthme isolé.

- le deuxième groupe, formé de 40 sérums qui nous ont été adressés pour syndrome cutané évocateur d'allergie, et qui comprend trois sous-groupes : l'urticaire, l'eczéma et l'oedème de Quincke.

- le troisième groupe, formé des 27 sérums, adressés pour asthme associé soit à un syndrome cutané évocateur d'allergie, soit à une pathologie non allergique

./...

Le tableau ci-dessous résume la répartition des sérums testés :

		ADULTES	ENFANTS	ORIGINE x	TOTAL
1er groupe	ASTHME ISOLE	62	33	17	112
	URTICAIRE	22			
2e groupe	ECZEMA	12			40
	OEDEME DE QUINCKE	6			
	ASTHME ASSOCIE A UNE AUTRE ALLERGIE	4	2		6
3e groupe	ASTHME ASSOCIE A UNE PATHOLOGIE NON ALLERGIQUE	20	1		21

TABLEAU II : REPARTITION DES SERUMS TESTES.

Pour dix-sept sérums, nous n'avons pas eu les renseignements suffisants nous permettant de les classer dans la catégorie "adulte" ou "enfants".

Le lecteur trouvera dans les paragraphes qui suivent l'étude de ces différents groupes.

2/ Etude des sérums adressés pour "Asthme clinique isolé" :

112 sérums furent testés ; 52 étaient positifs, dont 26 adultes et 15 enfants, et 11 sérums dont l'âge n'a pu être déterminé. Le tableau ci-dessous résume les résultats globaux :

	TESTES	POSITIFS	NEGATIFS	% DE POSITIVITE
SERUMS	112	52	60	46,5 %
ADULTES	62	26	36	42 %
ENFANTS	33	15	18	45,4 %
"AGE NON DETERMINE"	17	11	6	

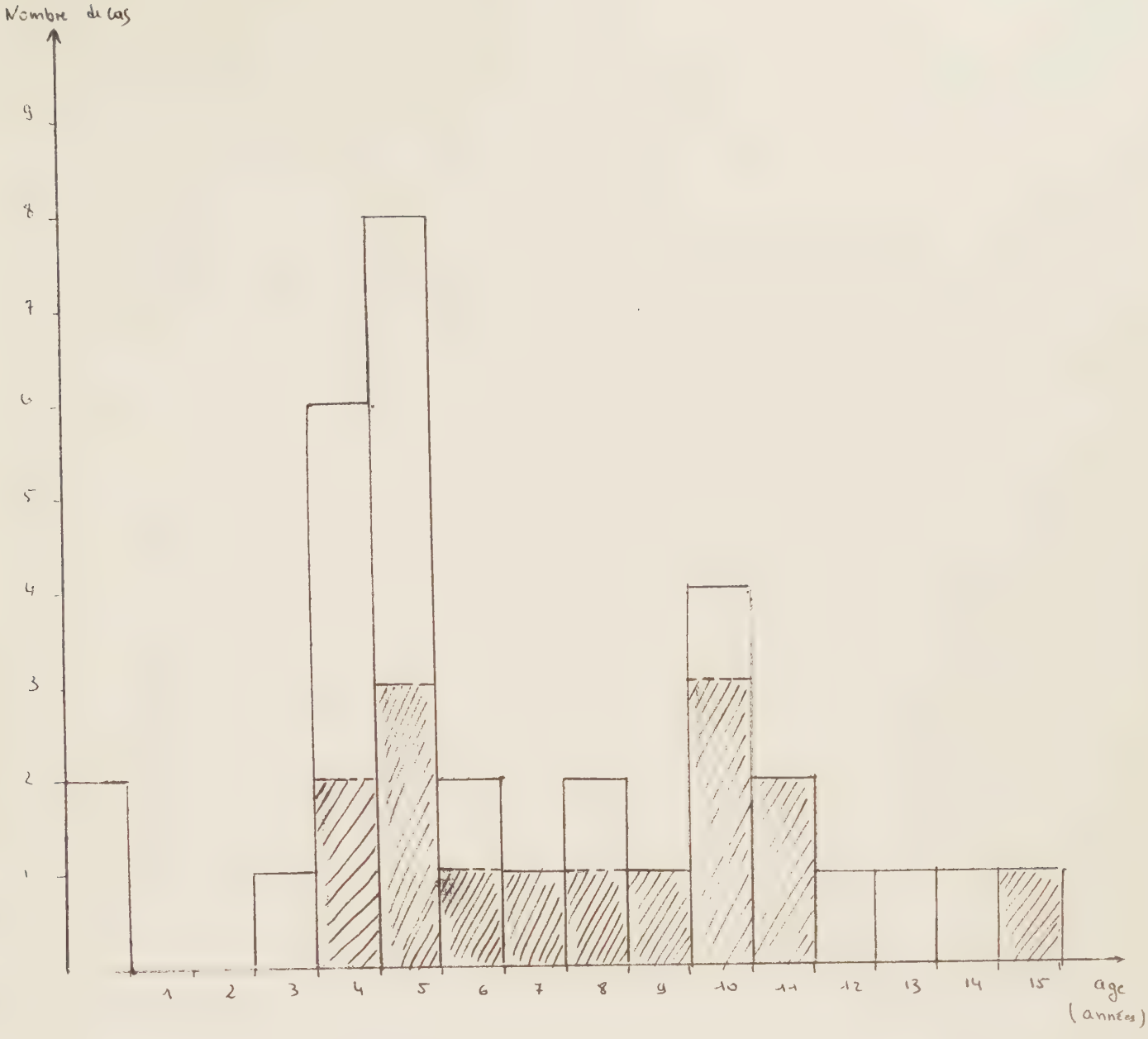
TABLEAU III : ETUDE DES SERUMS "ASTHME ISOLE CLINIQUEMENT"

./...

Un élément est à noter. En effet, contrairement à ce que l'on pourrait attendre, le pourcentage de positivité chez l'adulte est inférieur à celui de l'enfant. La méthode elle-même ne semble pas en cause, car dans ce cas, on trouverait des pourcentages abaissés, mais celui des adultes serait supérieur à celui des enfants. On sait d'autre part que les auteurs divisent l'asthme en deux catégories (2-12-16-43) : l'asthme intrinsèque, non allergique, au cours duquel le taux des IgE est généralement bien moins élevé que dans l'asthme extrinsèque, allergique. Notre premier groupe comprend principalement des asthmes cliniques dont la nature allergique ou non, lorsqu'ils nous étaient adressés n'était pas spécifiée. Dans ce groupe étudié, s'il y avait une majorité d'asthme intrinsèque, cela se répercuterait sur les deux populations "adulte" et "enfant", et de nouveau, il n'y aurait pas inversion, mais abaissement des pourcentages de positivité. Le problème ici est donc l'inversion des résultats attendus. Si l'on compare les sérums d'âge connu entre eux, on obtient le tableau suivant :

	ADULTES	ENFANTS	TOTAL
Résultats positifs	26	15	41
Résultats négatifs	36	18	54
Total	62	33	95

Le test du χ^2, appliqué à cette répartition donne pour χ^2 une valeur inférieure à 3,84, ce qui prouve que la différence n'est pas significative entre les résultats obtenus chez l'adulte et ceux obtenus chez l'enfant. Il apparaît alors de nouveau un paradoxe : d'après les études antérieures, puisque le taux basal des enfants est inférieur à celui des adultes, jusqu'à l'âge de 10 ans environ (4-7-9-46-48) le nombre de résultats positifs devrait être moindre. La répartition des sérums d'enfants testés en fonction de l'âge est la suivante : (en hachuré les cas positifs) :



RÉPARTITION DES SÉRUMS D'ENFANT (en hachuré les sérums positifs).

Il est difficile de mettre en évidence sur ce diagramme une élévation de la fréquence de positivité après 10 ans, car nous ne disposons pas d'assez nombreux cas. On observera cependant qu'à partir de 4-5 ans les sérums peuvent se positiver. Il est à remarquer que les sérums d'enfants proviennent des services de pédiatrie de l'hôpital et que ceux-ci sont en relation avec un allergologue, ce qui n'est pas le cas des sérums d'adultes, et il est possible à notre avis d'invoquer comme facteur pouvant interférer dans les résultats, cette provenance moins disparâtre des sérums d'enfants par rapport à celle des adultes.

Certains paramètres sont manquants : nous ne connaissons malheureusement pas le traitement que recevaient ces patients, adultes ou enfants, et en particulier si des corticoïdes leur étaient prescrits. On sait en effet que ceux-ci abaissent les taux d'IgE (54-55). Les allergènes, au cas où ils avaient été mis en évidence, ne nous sont pas connus, ni même l'éventualité de traitement désensibilisant. Or le taux des IgE semble varier suivant les allergènes, certains, comme les poussières et les moisissures paraissant être des allergènes faibles, donnant rarement une élévation du taux sérique (11-36-44) alors que d'autres, tels les poils d'animaux semblent être au contraire des allergènes forts (83). On sait aussi qu'un traitement désensibilisant fait varier le taux des IgE (44).

La littérature fournit des études sur l'élévation du taux des IgE sériques dans l'asthme. Suivant les séries d'asthme extrinsèque étudiées, (11-12-16-34-42-43-44-55) la fréquence de l'élévation du taux des IgE varie de 40 % (12) à 80 % (11) et suivant les séries d'asthme intrinsèque étudiées, elle varie de 5 % (28) à 33 % (46), ce dernier pourcentage correspondant pour une part, probablement, à des asthmes dont la nature allergique n'a pu être prouvée (en effet, les allergènes responsables ne sont pas tous connus).

Nos résultats se séparent de ces différentes études par le fait que l'asthme y est étudié globalement, en ne distinguant pas l'asthme extrinsèque de l'intrinsèque. Si l'on considère que 65 % des asthmes sont extrinsèques (22) sur les 62 sérums adultes étudiés, 40,3 sont susceptibles de provenir de sujets ayant un asthme extrinsèque, et donc 21,7 de sujets ayant un asthme intrinsèque. A partir des fréquences trouvées dans la littérature, on peut considérer, en moyenne, que dans 60 % des cas les IgE sont

./...

élevées au cours de l'asthme extrinsèque, et qu'elle le sont dans 20 % dans l'asthme intrinsèque. En appliquant ces fréquences à nos résultats, nous trouverions 24,18 sujets à asthme extrinsèque ayant un taux d'IgE élevé, et 4,34 sujets à asthme intrinsèque ayant un taux élevé d'IgE, soit au total, une élévation chez 28,5 sujets : or, nos résultats, montrant une élévation chez 26 sujets peuvent donc être considérés comme valables chez l'adulte.

Pour l'interprêtation des résultats obtenus chez les enfants, le problème est plus délicat : si l'on considère le taux d'IgE adulte atteint entre 5 et 7 ans (4) on ne peut véritablement considérer notre étude comme celle de sérums d'enfants, puisque d'après le diagramme la répartition est principalement située à partir de 5 ans. Les études du taux des IgE chez les enfants asthmatiques, qui sont toutes des études d'asthmes allergiques (10-11-54-55-90) donnent des résultats différents car les critères et les populations varient : ainsi, selon Johansson (10-11), 40 % des enfants ayant un asthme allergique ont un taux d'IgE significativement élevé par rapport à leur âge ; selon Lata Kumar (54-55) 45 % des enfants, âgés de 6 à 16 ans ont un taux supérieur à 700 ng/ml en cas d'asthme allergique, en dehors de tout traitement par corticoïde ; selon Wood (90) 35 % des asthmes allergiques infantiles ont un taux sérique supérieur à 1 000 ng/ml entre 6 et 16 ans. Notre étude portant sur l'asthme en général, et le seuil de sensibilité de notre méthode étant inférieur à celui des deux derniers résultats, notre chiffre peut paraître élevé (45,4 % de positivité), mais il n'est probablement que le reflet d'une différence de seuil de sensibilité.

3/ Etude des sérums adressés pour allergie cutanée :

Nous incluerons dans ce cadre les manifestations urticariennes, eczématiformes et l'oedème de Quincke. Au total, 40 volumes furent étudiés, 22 pour urticaire, 12 pour eczéma, 6 pour oedeme de Quiocke. Les résultats obtenus furent les suivants :

	TESTES	POSITIFS	NEGATIFS	% de POSITIVITE
URTICAIRE	22	6	16	27,5 %
ECZEMA	12	10	2	80,3 %
OEDEME DE QUINCKE	6	4	2	

TABLEAU IV : SERUMS ETUDIES POUR ALLERGIE CUTANEE.

./...

Le tableau IV montre que :

- 1/ L'urticaire ne donne pas fréquemment un taux élevé d'IgE. Ceci est d'ailleurs en accord avec les résultats de Ogawa (68). En fait, même lorsque le taux s'élève, il paraît parfois difficile de pouvoir rapporter exclusivement à un urticaire de telles constatations, car l'élévation n'est pas la règle en cas d'urticaire (49).

- 2/ Dans le cadre de l'eczéma, nous obtenons fréquemment une positivité (80,3 %). Ce résultat ne semble pas en accord avec les études antérieures (49) qui considèrent que seul l'eczéma atopique s'accompagne d'un taux élevé d'IgE. Dans notre étude nous avons étudié l'eczéma sous la forme globale. Cependant, il est à noter que très souvent les sérums qui nous étaient adressés associaient aux manifestations cutanées un taux d'éosinophilie élevé (jusqu'à 31 %). On peut donc se demander s'il n'existait pas chez ces sujets une autre allergie susceptible, en association avec l'allergie cutanée d'élever le taux sérique des IgE, ce type d'association ayant pu influer sur nos résultats.

- 3/ Pour l'oedème de Quincke, notre étude ne porte pas sur suffisamment de cas pour être interprêtable. Le taux des IgE semble cependant s'élever lors de ce phénomène.

4/ Etude des sérums adressés pour "allergie associée" :

27 sérums nous ont été adressés pour associations diverses à un asthme clinique. Parmi eux, 6 (dont 2 enfants) nous étaient envoyés comme provenant de polyallergiques. Nous avons obtenus les résultats suivants :

	ECZEMA	URTICAIRE	OEDEME DE QUINCKE
ASTHME ASSOCIE A	4	1	1
RESULTATS POSITIFS	2	0	0
RESULTATS NEGATIFS	2	1	1

TABLEAU V : ETUDE DES SERUMS DE "POLY ALLERGIQUES".

./...

On sait que l'association d'allergies augmente le taux des IgE (44). Cependant ici, le nombre de sérums testés est insuffisant pour être interprêtable. A noter que sur les 2 enfants associant à l'allergie respiratoire un eczéma, 1 d'entre eux avait un taux fortement élevé, le deuxième ne donnant pas l'élévation notable.

Les 21 autres sérums provenaient de patients, qui, ou re un asthme, présentaient une pathologie associée variable. Le tableau VI indique les résultats observés :

	TESTES	POSITIFS	NEGATIFS
SERUMS	21	6	15
ADULTES	10	3	7
ENFANTS	3	1	2
"AGE INDETERMINE"	8	2	6

TABLEAU VI : ASTHME ASSOCIE A UNE PATHOLOGIE NON ALLERGIQUE.

Sur les 10 sérums d'adultes testés, l'asthme était associé :

- 3 fois, dont deux positives avec un sérum donnant un trait de précipité en présence d'Aspergillus fumigatus.

- 2 fois à la présence d'oeufs de trichocéphales dans les selles. Les sérums ne montraient aucune élévation des IgE.

- 1 fois à la présence d'un sérum donnant un trait de précipité en présence d'Ascaris suum. On sait que l'Ascaris donne en général des élévations d'IgE (41). Ce sérum possédait d'ailleurs une élévation du taux des IgE.

- 1 fois à une maladie d'Addison. Le taux des IgE n'était pas élevé. Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature l'incidence d'une telle pathologie sur le taux sérique des IgE. Cependant, le traitement de la maladie d'Addison comportant du cortisol, on peut se demander si celui-ci, au cas où le taux d'IgE était élevé, ne l'a pas fait chuter.

- 1 fois à une agammaglobulinémie, dont le sérum ne montrait aucune élévation des IgE, ce qui était prévisible (6).

- 2 fois à une pneumonie, dont la présence on le sait ne modifie pas le taux des IgE (33). L'étude de ces sérums n'a montré aucune élévation du taux des IgE.

Chez les enfants, l'asthme était associé 2 fois à un eczéma, et 1 seul de ces sérums avait un taux élevé d'IgE. Le troisième enfant avait des

./...

oeufs de trichocéphales dans les selles, et le taux d'IgE ne paraissait pas supérieur au seuil de détection de notre méthode.

L'étude portant ici sur un nombre relativement faible de sujets d'âge déterminé, il est assez difficile de pouvoir interprêter la positivité faible (3 sur 10) des sérums d'adultes. Cependant, pour au moins deux d'entre eux, nous avons de bonnes raisons de penser que l'absence d'élévation du taux des IgE était liée à la pathologie associée à l'asthme.

IV - CONCLUSIONS PARTIELLES :

La méthode de dosage des IgE que nous utilisons dans notre laboratoire, et qui a été décrite au chapitre précédent a été employée pour tester des sérums d'adultes considérés comme exempts de toute cause d'élévation des IgE. Chez 3,6 % de ces sujets, le taux des IgE s'est avéré être supérieur au seuil de détection de notre méthode, ce qui est largement compatible avec les études antérieures des sérums d'adultes normaux en particulier celle de Johansson (5 %).

Nous avons par ailleurs testés 179 sérums dont 112 d'asthme, 40 d'allergie cutanée et 27 associant dans 6 cas une manifestation cutanée à l'asthme, et dans 21 cas une pathologie non allergique à l'asthme.

Dans la plupart des cas, nous ne possèdions aucun renseignement thérapeutique ni étiologique, et pour un certain nombre de sérums, il nous a été impossible de retrouver l'âge des sujets. Le taux basal des IgE variant comme on le sait suivant l'âge chez l'enfant, les sérums dont "l'âge" n'a pu être connu ne sont pas entrés dans l'interprêtation des résultats.

Nous avons étudié 112 sérums d'asthme et nous n'avons pas distingué l'asthme extrinsèque de l'asthme intrinsèque. Dans 46,5 % des cas, nous avons observé un trait de précipité. Chez l'enfant, sur 33 sérums étudiés, 45,4 % montrait un précipité et chez l'adulte, sur 62 sérums étudiés, 42 % se sont révélés positifs. Ces résultats ne diffèrent pas significativement l'un de l'autre et le nombre de cas positifs est en accord avec les résultats théoriques que nous étions présumés observer.

./...

Sur notre étude des sérums adressés pour allergie cutanée, et qui comporte 40 sérums, il est apparu clairement que l'urticaire était rarement associé à une élévation du taux des IgE, ce que confirment les études antérieures. Les sérums de sujets ayant un oedème de Quincke et que nous avons arbitrairement classés dans ce groupe présentent assez fréquemment une élévation du taux des IgE. Cependant, afin d'être interprêtable, il serait préférable de l'inclure dans une étude globale des allergies médicamenteuses. Pour l'eczéma, dont nous avons testé 12 sérums, provenant de sujets dont nous ne savons pas s'il existait ou non une atopie, près de 80 % des taux étaient supérieurs au seuil de sensibilité de notre méthode. Ce dernier résultat est supérieur à ceux généralement trouvés par les auteurs qui considèrent que seul l'eczéma atopique est associé à des élévations d'IgE. NOus ne pouvons cependant exclure l'éventualité d'une autre manifestation allergique ayant pu modifier nos résultats. Dans notre troisième groupe, 6 sérums seulement provenaient de sujets associant à l'asthme une allergie cutanée (4 fois un eczéma, 1 fois un urticaire, 1 fois un oedème de Quincke). Il nous a été impossible, vu le nombre insuffisant de cas de retrouver une élévation notable du taux des IgE lors de l'association d'allergies chez le même sujet. 21 sérums provenaient de patients associant une pathologie non allergique à l'asthme. Ce n'est que chez les adultes (10 cas) que l'interprétation a pu être possible montrant en particulier deux cas dans lesquels la pathologie associée pouvait être susceptible d'abaisser le taux des IgE.

C O N C L U S I O N

- : - : - : - : - : -

L'étude des principales techniques de dosage d'IgE a montré que seule, l'utilisation de radio éléments permet de doser valablement l'IgE lorsque le taux sérique est faible. Cependant, deux réserves doivent être faites : tout d'abord les techniques les utilisant sont généralement délicates, et d'autre part, la législation française concernant leur utilisation est telle que ce type de méthode ne peut être l'apanage de tout laboratoire. Ces dosages ne sont donc réservés qu'à des laboratoires spécialisés. Parmi ces méthodes, certaines permettent d'étudier non pas le taux global de l'IgE, mais la fraction dirigée contre un allergène déterminé. Ce sont donc des méthodes sélectives. Leur fiabilité est cependant liée à l'allergène utilisé, et il est regrettable qu'on ne puisse disposer d'allergènes standards.

La méthode de dosage de l'IgE sérique que nous proposons est destinée à évaluer, semi quantitativement, l'élévation éventuelle de l'IgE sérique. Son principe est simple, puisqu'il s'agit de rechercher l'éventualité d'un précipité au sein d'un gel agar, entre un sérum et une anti-IgE spécifique. Son seuil de sensibilité, de l'ordre de 600 ng/ml nous paraît suffisant pour la pratique courante. La réalisation technique, décrite au second chapitre est relativement simple. Ce genre de dosage peut donc être utilisé en dehors de tout centre spécialisé.

Nous avons étudié 156 sérums de sujets considérés comme témoins. Chez 3,6 % d'entre eux, nous avons noté une légère élévation du taux de l'IgE, ce qui est compatible avec les résultats généralement observés,

./...

dans lesquels on retrouve 5 % des sujets normaux ayant un taux de base supérieur à 700 ng/ml.

Trois groupes de sérums ont ensuite été étudiés :

- Le premier comprenait 112 sérums de sujets présentant un asthme clinique. Chez 42 % des adultes et chez 45,4 % des enfants, les taux d'IgE se sont révélés élevés, la différence entre ces deux populations n'étant pas significative. L'âge des enfants s'est montré suffisant pour leur permettre, le plus souvent nous semble-t-il d'avoir un taux basal proche de celui de l'adulte. Lors de cette étude les résultats obtenus furent en accord avec ceux généralement observés.

- L'étude du deuxième groupe, 40 sérums provenant de sujets présentant des manifestations cutanées susceptibles d'être de nature allergique, a permis de montrer que :

- sur 22 sujets présentant un urticaire, 27 % avaient un taux de l'IgE élevé. Ce pourcentage, relativement bas exprime bien le fait que généralement, l'urticaire n'entraine pas une élévation du taux de l'IgE.

- six sujets présentaient un oedème de Quincke : quatre d'entre eux possédaient un taux de l'IgE augmenté. Cependant, leur nombre était insuffisant pour nous permettre d'en tirer des conclusions valables.

- dix sérums, sur les douze provenant de sujets présentant un eczéma avaient une élévation du taux de l'IgE. Cette fréquence (80,3 %) supérieure à celles généralement observées est peut-être imputable à l'existence d'allergie associée non exprimée, certains de ces sujets présentant en effet un taux d'éosinophiles élevé (jusqu'à 31 %).

- le troisième groupe comprenait 16 sérums : six d'entre eux de sujets présentant un asthme clinique associé à une symptomatologie de nature probablement allergique, différente. Le faible nombre de cas ne

./...

nous a pas permis de conclure. Les dix autres sérums provenaient de sujets présentant un asthme associé à une pathologie variable, cette dernière ayant été susceptible à notre avis, dans deux cas (une agammaglobulinémie et une maladie d'Addison) d'abaisser le taux de l'IgE.

Il apparaît donc que les résultats obtenus à l'aide de notre technique de dosage nous permettent de considérer celle-ci comme fiable et comme pouvant être utilisée dans des laboratoires non spécialisés, grâce à la facilité de sa réalisation.

Vu le Doyen,

Vu le Président
de Thèse,

BIBLIOGRAPHIE

1 - Addison (G.H) Hales (CN)
Radio immunoassay methods (1971) p 481
Edited by Kirkham (KG) and Hunter (W.H)
CHURCHILL LIVINGSTONE

2 - Anfosso (F) Autran (P) Aubert (J) Charpin (J)
Dosage des IgE sériques : premiers résultats
Marseille Med. (1972) 109, 4, 283-287

3 - Arbesman (C.E) Ito (K) Wypych (J.I) Wicher (K)
Measurement of serum IgE by a one step single radial radio-diffusion method
J.Allergy clin.Immunol. (1972) 49, 2, 72-80

4 - Autran (P)
Qu'est-ce que l'immunoglobuline E
Lyon Méditerr. Med. 1971 VII, 16, 1441-1446

5 - Bazaral (M) Hamburger (R.N)
Standardization and stability of IgE
J.Allergy clin.Imm. USA (1972) 49, 3, 189-191

6 - Bennich (H) Johansson (SGO)
Structure and function of human immunoglobulin E
Advances in Immunology 13 : 1, 1971

7 - Berg (T)
Serums levels of immunoglobulins in infancy and childhood
A study of the normal development of IgG, IgA, IgM, IgD and IgE and of the IgE levels in childhood with atopic diseases
Acta univers upsal 1969, 1, 66

8 - Berg (T) BEnnich (H) Johansson (SGO)
In vitro diagnosis of atopic allergy ; I : A comparison between provocation tests and the radioallergosorbent test
Intern.Arch.Allergy Applied Immunol. 1971 40, 6, 770-778

9 - Berg (T) Johansson (SGO)
Immunoglobulin levels during childhood with special regard to IgE
Acta Paediat. Scand. 1969, 58 : 513

10 - Berg (T) Johansson (SGO)
In vitro diagnosis of atopic allergy
IV Seasonal variations of IgE antibodies to children allergic to pollens. A study of non treated children and of children treated with inhalation of disodium cromoglycate
Intern. Arch.Allergy appl. Immunol. 1971, 41, 2-3, 452-462

11 - Berg (T) Johansson (SGO)
IgE concentrations in children with atopic diseases
A clinical study
Intern. Arch. ALlergy appli. Immunol. 1969, 36, 3, 219-232

12 - Bernard (JP) Touraine (F) Cornillon (J) Grimaud (D)
Dosage des immunoglobulines E du sérum chez l'asthmatique
Lyon Méditerr. Med. 1972, 8, 14, 1333-1336

./...

13 - Berthaux (P)
Precipitation en milieu gélifié
Techniques en immunologie p 15-23
PMU eds 1973

14 - Biagi (F) Navarette (F) Pina (A), Santiago (AM) Tapia (L)
EStudia de très reacciones seologicas en el diagnostico de la cesticercosis
Rota med.hosp.gen.med. 1961, 24, 501-508

15 - Biguet (J) Capron (A) Tran Van Ky (P) Rose (F)
Présence de substances du type C dans les antigènes venimeux et de proteine anti C au cours des helminthiases humaines ou expérimentales
Revue d'Immunologie 1965, 29, 233-240

16 - Bonomo (L)
Immunoglobuline IgE ed asma bronchiale
Folia allergol. Ital. 1971 18, 4, 351-355

17 - Brishammar (S) Hjerten (S) Hofsten (B)
Immunological precipitates in agarose gels
Biochim. Biophys. acta 1961, 53, 518-521

18 - Cabanien (G) Bezian (J.H), Capbern (A) Nouyrit (JH) Blanquet (E) Pautrizel (R)
Etude du taux des IgE dans différents syndromes allergiques
Revue française d'allergologie, 1972, 4, 323-331

19 - Carrel (S) Theilkäs (L) Morell (A) Skvaril (F) Baraudun (S)
Isolation of normal IgE by means of an immunoabsorbent
Biochem. J. 1971, 127, 405-408

20 - Centifauto (YM) Kaufman (H.E)
A simplified method for measuring human IgE
J.Immunology 1971, 107, 2, 608-609

21 - Ceska (M) Lundkvist (U)
A new and simple radio immunoassay method for the determination of IgE
Immunochemistry Vol 9, 10, 1021-1030

22 - Charpin (J)
Asthme et allergie
Assises de Médecine 1957, 15, 2, 105-109

23 - Coombs
Detecting IgE by RCLAAR
Proc. Roy Soc. Med. 1969, 62, 9, 975

24 - Coombs (RRA) Hunter (A) Jonas (WE) Bennich (H) Johansson (SGO) Panzani (R)
Detection of IgE (ND) specific antibody (probably reagin) to castor bean allergen by the red cell linked antigen antigobulin reaction
Lancet 1968, 1, 1115-1118

./...

25 - Engvall (E) Perlmann (P)
Enzyme linked immunosorbent assay (E LISA)
Quantitative assay of IgG
Immunochemistry 1971, 8, 871

26 - Eurobio Laboratoires Paris

27 - Franchimout (P)
Principes généraux des dosages radio immunologiques
Ann. Bio. clinique 1970, 28, 3-14

28 - Frick (O.L) Ishizaka (K)
Association of IgE with reaginic activity in sera from grass pollen and horse dander-sensitive individuals
J.Allergy clin. Immunol. 1970, 45, 4, 220-223

29 - Gleich (GJ) Averbeck (AK) Swedlund (HA)
Measuremant of IgE in normal and allergic serum by radio-immunoassay
J.Lab. clin. med. 1971, Vol 77, 4, 690-698

30 - Glick (S), Roth (J), Yabeco (R), Berson (S)
Immunoassay of human growth hormone in plasma
Nature , GB, 1963, 199, 784-787

31 - Graber (CD) Grater (WE) Hines (DW)
Immunological procedures of relevance to allergists
Ann. Allergy USA 1972, 30, 8, 453-456

32 - Greaves (MW) Yamamoto (S) Fairley (VM)
New in vitro test for IgE mediated hypersensitivity in man
BRitish Med. Journal 1972, 2, 623-624

33 - Heiner (D.C) Groldstein (G)
Immunochemical studies of selected subjects with wheat in tolerance
J.Allergy clin. imm. (1970) 45, 6, 333-346

34 - Heiner (DC) Rose (B)
Elevated levels of γE (IgE) in conditions other than classical allergy
J.allergy clin.Immunol. 1970, 45, 1, 30-42

35 - Hoffman (DR)
Estimation of serum IgE by an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)
Allergy and clinical Immunology, Vol 51, 5, 303-307

36 - Holford-Stevens (V) Wide (L) Milne (JF) Pepys (J)
Allergens and antigens of Dermatophagoïdes Farinae
Clin. exper. Immunol. 1970, 6, 1, 49-59

37 - HYLAND : Laboratoire TRAVENOL (Dept HYLAND)

38 - Ishizaka (K), Ishizaka (T)
Allergen binding activity of γE, γG and γA antibodies in sera from atopic patients in vitro measurements of reagine antibody
J.Immunology 1967, 98, 3, 490-501

./...

39 - ISHIZAKA (K) Ishizaka (T)
Identification of γE antibodies asacarrien of reaginic activity
J.Immunology 1967, 99, 6, 1187-1198

40 - Ishizaka (K) Ishizaka (T) Hornbrook (M)
Physicochemical properties of reaginic antibody
V : Correlation of reaginic activity with γE globulin antibody
J.Immunol. 1966, 97, 4, 840-857

41 - Johansson (SGO) Mellbin (T) Vahlquist (B)
Immunoglobulin levels in Ethiopian preschool children with special reference to high concentrations of immunoglobulin E (IgND)
Lancet 1968, 1, 1118-1121

42 - Johansson (SGO)
Raised levels of a new immunoglobulin class in asthma
Lancet 1967, 2, 951-953

43 - Johansson (SGO)
IgE in allergic diseases
Proc. Roy.Soc.Med. (1969), 62, 9, 975-976

44 - Johansson (SGO) Bennich (H)
Some factors influencing the sérum IgE levels in atopic diseases
Clin. EXper. IMmunol. 1970, 6, 1, 43-47

45 - Johansson (SGO) Bennich (H) Berg (T)
In vitro diagnosis of atopic allergy
III. Quantitative estimation of circulating IgE antibodies by the radioallergosorbent test
Int. Ach.Allergy Applied Imm. 41, 2-3, 443-451

46 - Johansson (SGO) Bennich (H) Berg (T)
The clinical significance of IgE
Progress in clinical Immunology 1972, VOl 1

47 - Johansson (SGO) Bennich (H) Wide (L)
A new class of Immunoglobulin in human serum
Immunology 1968, 14, 265-272

48 - Johansson (SGO) Berg (T)
Immunoglobulin levels in healthy children
Acta Paediat. Scand. 1967, 56, 572-579

49 - Juhlin (L) Johansson (SGO) Bennich (H) Högman (C) Thynesson (N)
Immunoglobulin E in dermatoses. Levels in atopic dermatisis and urticaria
Arch. DErm. 1969, 100, 1, 12-16

50 - Kabat (EA) Mayer (MM)
Experimental Immunochemistry 1971 p 85-90
Thomas (CC) - Sprinfield Illinois USA

51 - Klopstock (A) Schwartz (J) Grinberg (E)
Degranulation of basophil cells as diagnostic test in allergic states
Israël Med.J. 1962, 21, 216-219

./...

52 - Korotzer (J.L) Haddad (ZH)
In vitro detection of human IgE mediated immediate hypersensitivity reactions to pollens and penicillins by a modified rat most cell degranulation
J.Allergy 1970, 45, 126-12

53 - Korotzer (J.L) Haddad (ZH) Lopapa (AF)
Detection of human IgE antibody by a modified RMC D technique
Immunology 1971, 20, 4, 545-548

54 - Lata Kumar, Newcomb (R.W) Hornbrook (M)
A year round study of serum IgE levels in asthmatic children
J.Allergy clin. immunol. 1971, 48, 5, 305-312

55 - Lata Kumar, Newcomb (RW), Ishizaka (K) Middleton (E) Horn brook (MM)
IgE levels in sera of children with asthma
Pediatrics 1971, 47, 5, 848-856

56 - Layton (L.L) Lee (S) Yamanaka (E) Greene (FC) Green (TW)
Allergy skin tests upon castor bean sensitive humans and passively sensitized cynomolgus monkeys
Int.Arch.Allergy 1962, 20, 257-261

57 - Layton (L.L) Yamanaka (E)
Demonstration of human reagins to food, cat dander an insect, and ragweed and grass pollen
J.Allergy 1962, 33, 271-275

58 - Longbottom (JL) Pepys (J)
Pulmonary aspergillosis : diagnostic and immunological signifiance of antigens and C substance in Aspergillus fumigatus
J.Path. Bact. 1964, 88, 141-151

59 - Macy (NE) O'Sullivan (MB) Gleich (GJ)
Comparison of sensitivities of immunodiffusion methods
Proc.Roy.exp. Biol. 1968, 28, 1098-1102

60 - Mancini (G), Carbonara (A.O) Heramans (J.F)
Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion
Immunochemistry 1965, 2, 235-254

61 - Mann (D) Granger (H) Fahey (J.L)
Use of insoluble antibody for quantitative determination of small amounts of immunoglobulin
J.Immunology 1969, 102, 3, 618-624

62 - Moneret-Vautrin (DA) Pupil (P) Grilliat (JP)
Test de degranulation des basophiles humains. Technique et premiers résultats
Rev.franç. Allergol. 1974, 3, 121-130

63 - Morgan (CR) Lazarow (A)
Immunoassay of Insulin using a two antibody system
Proc.Soc.Exper.Biol. Med. 1962, 110, 29-32

./...

64 - Morgan (CR) Lazarow (A)
Immunoassay of insuline : Two antibody system. Plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats.
Diabetes (1963) 12, 115-126

65 - Morgan (C) Lazarow (A)
Immunoassay of insulin : two antibody system
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. USA 1962, 110, 128

66 - NORDIC Pharmaceuticals and diagnostics
délivré en France par SEBIA . sarl

67 - Nusbacher (J) Berkman (E.M) Wong (KY) Kochwo (S) Rosenfield (RV)
Assay of IgG and other human plasma protein by quantitative inhibition of passive hemagglutination
J.IMmunology 1972, 108, 4, 893-902

68 - Ogawa (M) Berger (PA) McIntyre (OR) Clendenning (WE) Ishizaka (K)
IgE in atopic dermatitis
Arch. Derm. 1971, 103, 6, 575-580

69 - Opree (W)
Determination of IgE levels by a modified radioimmunosorbent procedure
Excerpta medica 1971, N°235 p 27
International congress series

70 - Ouchterlony (O)
In vitro method for testing the toxin producing capacity of diphteria bacteria .
Acta path. Microb.Scadd. 1948, 25, 186-191

71 - Ouchterlony (O)
Progress in allergy vol 6 p 30 1962
Allos (PK) et Waksman (BH) eds

72 - Perelmutter (L) Kher (K)
Rast mast cell in human reagin detection
Lancet 1969, i, 1269-1269

73 - Perelmutter (L) Millard (E)
A modified RMC technique for the detection of human IgE type reagins
Int. ARch. Allergy Appl. Imm. 1971, 40, 4-5, 675-681

74 - Petithory (J) Jay (M) Feillet (M)
Le diagnostic par immuno electrophorèse et ouchterlony de la cysticercose
L'encéphale, 1971 N°1

75 - Polmar (S.H) Waldmann (TA) Terry (WD)
A comparison of three radioimmunoassay techniques for the measurement of serum IgE
J.Immunology Vol. 110, 5, 1253-1261

./...

76 - Prausnitz (C) Kütsner (H)
Studien uber uberempfind lichkeit
Centr albl.F.Bakteriol.I.Abt. Orig. 1921, 86, 160

77 - Relyveld (E.H.)
Immunoglobulines et activité réaginique
Revue française d'allergie 1969, 9, 4, 219-232

78 - Renoux (M) de Montis (G)
Place des IgE et des anticorps précipitants dans l'hypersensibilité humorale
Rev. du Praticien XXI, 22, 3337- 3351

79 - Rowe (D.S)
Radioactive single radial diffusion : a method for increasing the sensitivity of Immunochemical quantification of proteins in agar gel
Bulletin of world health organisation vol. 40, 4, 613-615

80 - Shelley (WB)
New serologic test for allergy in man
Nature 1962, 195, 1181-1183

81 - Uriel (J) De Nechaud (B)
La recherche d'alpha-foeto-proteine en pathologie humaine. Etat actuel de la question
Annales Inst.Past. 1972, 122, 829-839

82 - Varga (J.M) Ceska (M)
Annual meeting of the Swedish medical society 1970
Stockolm p 424 (Abskact)

83 - VIrchow (C) Möller (E) Debelic (M)
Immunoglobulin E in allergic bronchial asthma with special reference to the most important inhalation antigens
Dtsch Med. Wochenschr. 1972, 27, 1024-1028

84 - Wide (L)
Annual meeting of the Swedish medical society
Stockolm (1970) p 253 (Abskact)

85 - Wide (L)
Radioimmunoassay methods p405
Edited by Kirkham (KE) and Hunter (WH)
CHURCHILL LIVINGSTON

86 - Wide (L) Axen (R) Porath (J)
Radioimmunosorbent assay for proteins chemical couplings of antibodies to insoluble dextran
Immunochemistry 1967, 4, 6, 381-386

87 - Wide (L) Bennich (H) Johansson (SGO)
Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergy antibodies
Lancet 1967, 2, 7526, 1105-1107

./...

88 - Wide (L) Porath (J)
Radioimmunoassay of proteins with the use of Selphadex coupled antibodies
Biochem. Biophys. Acta (Amst.) 1966, 130, 257-260

89 - Wilson (A.B.) Marchand (R.M) Coombs (RRA)
Passive allergisation in vitro of human basophils with serum containing IgE reaginic antibodies to castor allergen, demonstrated by rosette formation
Lancet 1971, 1, 7713, 1325-1329

90 - Wood (CBS) Oliver (J)
Serum IgE in asthmatic children
Arch. of disease in childhood 1972, 47, 890-896

91 - Yalow (R) Berson (S)
Immunoassay of endogenous plasma insulin in man
J. clin. Invest. USA (1960), 39, 1157